

# Untersuchung zur Erosion des Zahnschmelzes durch saure Genussmittel

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades

*doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)*

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Mike Decker  
geboren am 30. Januar 1974 in Karl-Marx-Stadt, jetzt Chemnitz

## Gutachter

1. Prof. Dr. Dr. L. Stößer, Jena (†)
2. Prof. Dr. R. Schiele, Jena
3. Prof. Dr. H.-G. Schaller, Halle (Saale)

Tag der öffentlichen Verteidigung: 06.10.2009

## Abkürzungsverzeichnis

|             |   |
|-------------|---|
| °           | Grad  |
| Abb.        | Abbildung                                     |
| ASS         | Acetylsalicylsäure                            |
| c           | Konzentration                                 |
| °C          | Grad Celsius                                  |
| FAP         | Fluorapatit                                   |
| g           | Gramm   |
| HAP         | Hydroxylapatit                                |
| HV          | Härte (-einheiten) nach Vickers               |
| $\Delta$ HV | Härtedifferenz / Härteverlust                 |
| ISO         | International Organization of Standardization |
| log         | Logarithmus                                   |
| max.        | maximal                                       |
| mm          | Millimeter                                    |
| $\mu$ m     | Mikrometer                                    |
| $\mu$ mol/l | Mikromol pro Liter                            |
| min         | Minute  |
| min.        | minimal                                       |
| ml          | Milliliter                                    |
| mol         | Mol   |
| MW          | Mittelwert                                    |
| n           | Nettofallzahl                                 |
| nm          | Nanometer                                     |
| p           | Irrtumswahrscheinlichkeit                     |
| Pell.       | Pellikel                                      |
| REM         | Rasterelektronenmikroskop                     |
| s           | Sekunde                                       |
| SD          | Standardabweichung                            |
| Tab.        | Tabelle                                       |
| vs.         | versus  |

# Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. Zusammenfassung</b>                                     | <b>1</b>  |
| <b>2. Einleitung</b>  | <b>2</b>  |
| 2.1. Der Zahnschmelz  | 3         |
| 2.2. Die Oberfläche und Härte des Zahnschmelzes               | 4         |
| 2.3. Der Speichel   | 5         |
| 2.4. Physiologische Aspekte der Speichelsekretion             | 6         |
| 2.5. Die speichelinduzierte Pellikel                          | 9         |
| 2.6. Verlust von Zahnhartsubstanzen – tooth wear              | 10        |
| 2.7. Klinisches Bild des Hartsubstanzverlustes                | 11        |
| 2.8. Erosionschemie   | 13        |
| 2.9. Speichелеinfluss auf erosive Prozesse                    | 15        |
| 2.10. Die Individualität der Erosion                          | 16        |
| 2.10.1. Intrinsische Säuren                                   | 16        |
| 2.10.2. Extrinsische Säuren                                   | 16        |
| 2.10.3. Erosives Potential von Süßwaren                       | 17        |
| <b>3. Zielstellung</b>  | <b>19</b> |
| <b>4. Material und Methode</b>                                | <b>21</b> |
| 4.1. Material   | 21        |
| 4.1.1. Zahnschmelz  | 21        |
| 4.1.1.1. Aufbereitung/Präparation des Zahnschmelzes           | 21        |
| 4.1.1.2. Politur der Zahnschmelzproben                        | 22        |
| 4.1.1.3. Pellikelbildung                                      | 23        |
| 4.1.2. Saure Candies  | 24        |
| 4.1.3. Proband  | 24        |
| 4.2. Methoden   | 24        |
| 4.2.1. Speichelassoziierte Untersuchungen                     | 24        |
| 4.2.1.1. Ermittlung von Speichelfließraten                    | 24        |
| 4.2.1.2. Ruhespeichel   | 25        |
| 4.2.1.3. Messung der durch Candies stimulierten Speichelmenge | 25        |

|  |    |
|--|----|
| 4.2.2. pH-Bestimmung des Speichels   | 26 |
| 4.2.2.1. Extraorale pH-Werterfassung   | 26 |
| 4.2.2.2. Intraorale pH-Messung   | 26 |
| 4.2.3. Intraorale pH-Wert-Messung - Telemetrie   | 27 |
| 4.2.3.1. Probanden   | 27 |
| 4.2.3.2. Messmethode   | 27 |
| 4.2.3.3. Messprothese  | 28 |
| 4.2.3.4. Meß- und Auswertungssystem  | 28 |
| 4.2.3.5. Rückblick telemetrischer Messungen  | 29 |
| 4.2.4. Mikromorphologische Untersuchungen  | 30 |
| 4.2.4.1. Oberflächenmikrohärte nach Vickers  | 30 |
| 4.2.4.2. Messung der Mikrohärte des Zahnschmelzes  | 31 |
| 4.2.4.3. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen   | 33 |
| 4.3. Vorversuche   | 35 |
| 4.3.1. Massenbestimmung der Candies  | 35 |
| 4.3.2. Speichelfließrate während des Candyverzehrs   | 35 |
| 4.3.3. Lutschzeiten verschiedener Dropse   | 36 |
| 4.4. Studiendesign und Versuchsdurchführung  | 37 |
| 4.4.1. pH-Werte in Speichel- und wässrigen Lösungen sowie Speichelfließraten während des Candyverzehrs | 37 |
| 4.4.2. Ablauf der Erosionsversuche an Schmelzproben (Ermittlung des Härteverlustes)                    | 38 |
| 4.4.3. Durchführung der Experimente  | 39 |
| 4.5. Statistische Auswertung   | 40 |
| <b>5. Ergebnisse</b>   | 41 |
| 5.1. pH-Werte der Candylösungen in Wasser bzw. Speichel  | 41 |
| 5.1.1. pH-Werte und Säurekonzentrationen von wässrigen Candylösungen                                   | 41 |
| 5.1.2. Extraoral ermittelte Speichel-pH-Werte während des Candyverzehr                                 | 42 |
| 5.1.3. Speichelmengen und wirksame Zitronensäurekonzentrationen  | 43 |
| 5.1.4. Wirksame Zitronensäurekonzentrationen im Speichel   | 43 |
| 5.1.5. Intraoral ermittelte Speichel-pH-Werte während des Candyverzehrs                                | 45 |

|  |    |
|--|----|
| 5.1.6. Telemetrisch ermittelte pH-Werte und Säuremengen während des Candyverzehr | 45 |
| 5.2. Mikromorphologische Untersuchungen  | 49 |
| 5.2.1. Mikrohärteuntersuchungen  | 49 |
| 5.2.1.1. Mikrohärteverluste im Versuchsmodus <i>in vitro</i>                     | 49 |
| 5.2.1.2. Mikrohärteverluste im Versuchsmodus <i>in situ</i>                      | 50 |
| 5.2.1.3. Mikrohärteverluste bei dynamischem und statischem Verzehrmodus          | 52 |
| 5.2.1.4. Zusammenfassung der Mikrohärteuntersuchungen aus statistischer Sicht    | 53 |
| 5.2.2. Rasterelektronische Untersuchungen  | 54 |
| <b>6. Diskussion</b>   | 60 |
| 6.1. pH-Werte des Speichels und saurer Lösungen                                  | 60 |
| 6.1.1. pH-Werte wässriger Lösungen   | 60 |
| 6.1.2. Extraoral registrierte Speichel-pH-Werte                                  | 61 |
| 6.1.3. Intraoral registrierte Speichel-pH-Werte                                  | 62 |
| 6.1.4. Telemetrische Speichel-pH-Werte   | 63 |
| 6.2. Ergebnisse der Mikrohärteuntersuchungen                                     | 64 |
| 6.3. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen                               | 67 |
| <b>7. Schlussfolgerungen</b>   | 69 |
| <b>8. Literaturverzeichnis</b>   | 70 |
| <b>9. Anhang</b>   | 81 |
| Tabellen   | 81 |
| Ehrenwörtliche Erklärung   | 86 |
| Danksagung   | 87 |
| Lebenslauf   | 88 |

## 1. Zusammenfassung

Ziele der vorliegenden Arbeit waren es, das erosive Potential saurer Lutschwaren mit definierten Zitronensäurekonzentrationen mit bekannten Verfahren zu untersuchen und dabei Limits zur Vermeidung erosiver Schäden anzugeben. Extraorale pH-Messungen wässriger Lösungen der sauren Bonbons (0,5–2,0 % Zitronensäure) spiegelten die komplexen Lösungsvorgänge in der menschlichen Mundhöhle nur bedingt wider. Telemetrische pH-Messungen hingegen waren gut geeignet, intraorale pH-Schwankungen während des Bonbonverzehrs zu ermitteln. Eine intraorale Messung mit Einstabmesskette erfasste demgegenüber den ortsspezifischen Speichel-pH-Wert.

Die mikromorphologischen Untersuchungen der Härte des Zahnschmelzes nach Vickers zeigten eine eindeutige Abhängigkeit der Auflösungsprozesse des Zahnschmelzes von der Zitronensäurekonzentration der benutzten Bonbons (0,5 % Zitronensäure pro Bonbon → Härteverlust 59,1 HV vs. 2,0 % Zitronensäure pro Bonbon → Härteverlust 152,6 HV). Die erworbene Pellikel führte bei der geringeren Säurekonzentration (0,5 % pro Bonbon) zu einem fast vollständigen Erosionsschutz (Härteverlust je nach Versuchsumgebung 4,9–6,4 HV). Bei höherer Säurekonzentration (2,0 % pro Bonbon) genügt die Pellikel nicht mehr, um Erosionen zu verhindern (Härteverlust je nach Versuchsumgebung 47,3–72,2 HV). Damit bestätigten die Härteuntersuchungen das erosive Potential der 2,0%igen Zitronensäurebonbons übereinstimmend zu den telemetrischen pH-Messungen dieser Bonbons, bei denen der Richtwert von 40  $\mu\text{mol/l}$   $[\text{H}^+]$  in 15 min hinsichtlich der Nonerosivität von Lebensmitteln stets überschritten.

Der Schutz einer 24-h-*in-situ*-Pellikel war dem einer Pellikel *in statu nascendi* fast gleichzusetzen ( $p \geq 0,05$ ).

Die rasterelektronenmikroskopische Auswertung bestätigte die Konzentrationsabhängigkeit der Erosionsprozesse am Zahnschmelz und die limitierte Säureresistenz der speichelinduzierten Pellikel.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse scheint es wichtig, weiterhin pH-Messungen mit mikromorphologischen Analysen (Mikrohärte, Mikroradiografie, REM etc.) zu kombinieren und die titrierbare Säuremenge, die Kalziumsättigung und die Expositionszeit zu berücksichtigen, um Erosionen durch saure Lebens- und Genussmittel sicher auszuschließen.

## 2. Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit zwei Materialien in der menschlichen Mundhöhle und ihren Interaktionen bei physiologischen und pathophysiologischen Prozessen. Beide zeichnen sich durch besondere physikalische, chemische und biologische Eigenschaften aus. Es handelt sich um den Zahnschmelz und das ihn umgebende flüssige Medium, den Speichel. Bei Erosionsprozessen, die unabhängig von intraoralen Mikroorganismen zur Erweichung der Zahnoberflächen führen, spielen Speichel und Zahnschmelz eine wichtige Rolle im „Reaktionsraum Mundhöhle“. Es ist daher von Interesse, intraorale Abläufe näher zu beleuchten bzw. bei *In-vitro*-Untersuchungen diese Bedingungen zu simulieren. Die geplanten Untersuchungen sollen Hinweise liefern, inwieweit bestimmte Säurekonzentrationen in Nahrungsmitteln zu Erosionen führen. Besonderes Interesse gilt dabei dem Erosionspotential saurer Candies im Vergleich zu hinreichend untersuchten sauren, flüssigen Substanzen, die zu einer oberflächlichen Schmelzerweichung führen. Die Lösungsprozesse von Candies in der menschlichen Mundhöhle sind komplexer als der Genuss erosiver Flüssigkeiten, so dass weitere Untersuchungen notwendig sind, um deren Erosionspotential sicher zu bestimmen.



Abb. 1: Erosionen im Milchgebiss (mit freundlicher Genehmigung Fr. Heinrich-Weltzien, Jena)



## 2.1. Der Zahnschmelz

Der Zahnschmelz gilt als härteste Substanz des menschlichen Körpers (Pschyrembl 1998, Lippert et al. 2004b, Barbour und Shellis 2007, He et al. 2006). Dabei charakterisiert die Härte den Widerstand eines Materials, den es dem oberflächlichen Eindringen eines festeren Körpers entgegensetzt (Combe 1984). Am Zahnschmelz wird wie bei allen anderen Materialien diese Eigenschaft durch dessen Nano- und Mikrostruktur bestimmt. Hierbei imponieren im Zahnschmelz ein großer Anteil anorganischer Substanz (95 %) und nur geringe Anteile organischer Strukturen (1 %) sowie wenig Wasser (4 %) (Lippert et al. 2004a).

Ähnlich anderen kalzifizierten Geweben ist der Schmelz in einer hierarchischen Struktur organisiert. Auf kristalliner Ebene wird der Aufbau durch die Anordnung des Kalziumhydroxylapatits ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) bestimmt (Whittaker 1982). Die Hydroxylapatitkristalle haben eine durchschnittliche Länge von 68,3 nm und einen Durchmesser von 26,3 nm.

Die nächste Stufe des komplexen Aufbaus bilden Prismen, deren Durchmesser 3 bis 6  $\mu\text{m}$  beträgt (Selvig und Halse 1972). Hierbei sind im Zentrum des Prismas HAP-Kristalle parallel und in Prismenrichtung angeordnet, während sie am Prismenrand und den Enden bis zu 60° Abweichung von der Prismenlängsachse aufweisen (Poole und Brooks 1961). Die Prismen verlaufen parallel und perpendicular zur äußeren Oberfläche. Gegenüber dem prismatischen Schmelz befindet sich an der äußersten Schmelzoberfläche eine aprismatische Schmelzschicht. Dieser aprismatische Schmelz ist nochmals stärker mineralisiert (Brookes et al. 1995), seine Dicke beträgt bis zu 100  $\mu\text{m}$  (Whittaker 1982).

Bei dem organischen Anteil des Schmelzes handelt es sich größtenteils um Proteine. Wahrscheinlich spielen bei der Anknüpfung der Kristalle saure Proteine wie Enameline und Tufteline eine Rolle (Moss-Salentijn 1997). Die mechanischen Eigenschaften des Schmelzes werden maßgeblich von den Peptiden und Proteinen mitbestimmt, da sie als Polymer und interkristalline Haftsubstanz wirksam sind (He und Swain 2007).

Der Anteil der Wassers (bis zu 6 %) bestimmt ebenfalls einige Eigenschaften des Zahnschmelzes wie Kompressibilität, Permeabilität und ionäre Konduktivität. Das Wasser kann in gebundener, aber auch in freier Form vorliegen und ist hauptsächlich in den inter- und intraprismatischen Freiräumen zu finden (Poole et al. 1981). Dabei spielen besonders die Porengrößen von 0,2 nm bis zu 6 nm eine wichtige Rolle in

der Wasseraufnahme und Filterfunktion des Zahnschmelzes hinsichtlich verschiedener Ionen, gelöster organischer Bestandteile und Farbstoffe.

Somit entspricht der menschliche Zahnschmelz einer Komposition anorganischer und wenig organischer Substanzen sowie Wasser und ist damit eine anorganisch-kristalline Substanz. Trotz seiner vorhandenen Mikroporositäten ist er anderen kristallinen Stoffen nicht gleichzusetzen (White et al. 2001), vielmehr sind durch den chemischen Aufbau wie auch durch die hierarchische Anordnung der Bestandteile die Wechselwirkungen der mechanischen Eigenschaften äußerst komplex (Spears 1997).

## **2.2. Die Oberfläche und Härte des Zahnschmelzes**

Die Oberfläche und deren Härte sind bedingt durch den zuvor beschriebenen strukturellen Aufbau. In der Literatur ist die äußere Oberfläche von besonderem Interesse, da sowohl kariogene als auch nicht kariogene Prozesse ihren primären Anfang dort nehmen. Im Vordergrund zahlreicher Publikationen steht dabei eine Säureattacke (intrinsisch, extrinsisch, bakteriell synthetisiert), aber auch die Resistenz des Schmelzes gegenüber mechanischen Einflüssen. Grundsätzlich nimmt die Härte des Zahnschmelzes von außen zum Dentinmantel hin ab. Schemel et al. (1985) stellten dabei fest, dass die Härte von Zähnen aus Ausgrabungen des Altertums durchaus der Härte heutiger Zähne entspricht. Lokale Härteunterschiede in einzelnen Schmelzregionen eines Zahnes sind unter anderem durch Strukturen wie „Hunter-Schregersche Linien“, „Schmelzbüschel“ und „Schmelzspindeln“ zu erklären. Eine weitere Differenzierung ergibt sich aus der Existenz zweier Dentitionen im menschlichen Gebiss, die sich in der Dicke des Zahnschmelzes und des Dentins (Huszar 1971) ebenso unterscheiden wie in ihrem Aufbau (Besic et al. 1975, Stößer 2008) und den sich daraus ergebenden Eigenschaften. Milchzahnschmelz besitzt eine größere Porosität (Fejerskov et al. 1987); Shellis (1984) spricht hierbei von Unterschieden an Prismenbindungsstellen und in den interprismatischen Räumen. Da auch der Mineralgehalt des Schmelzes der einzelnen Dentitionen abweicht (Wilson und Beynon 1989), ergeben sich verschiedene Diffusionsverhalten, z. B. für Fluorid (Linden et al. 1986). Nicht zuletzt unterscheidet sich auch die Ausrichtung der HAP-Kristalle (Skaleric et al. 1982).

Eine quantifizierbare Eigenschaft der Schmelzoberfläche ist deren Mikrohärtigkeit. Viele Autoren, unter anderem Attin et al. (1997) nutzten Härtemessverfahren wie das nach Vickers, um mechanische Eigenschaften des Zahnschmelzes und Erosionsprozesse zu quantifizieren. Oft wird dabei boviner Zahnschmelz als Modell für humanen Zahnschmelz verwendet. Obwohl ursprünglich menschlicher Zahnschmelz als härter und weniger porös angesehen wurde (Arends et al. 1989), stellten einige Autoren, z. B. Meurmann und Frank (1991), fest, dass prismatischer humaner Zahnschmelz ähnliche Erosionsmuster aufweist wie boviner Zahnschmelz und dass die Oberflächenhärtigkeit vergleichbar ist (Esser et al. 1998).

Somit kann boviner Zahnschmelz als geeignetes Modell für humanen Zahnschmelz benutzt werden (Rugg-Gunn et al. 1998, Zero et al. 1990).

### **2.3. Der Speichel**

Der Speichel übernimmt eine Vielzahl von Aufgaben im menschlichen Körper, letztlich ist er zwingend notwendig für eine gesunde Mundhöhle und damit für den gesamten Organismus. Hierbei sind drei große Komplexe der Speichelfunktionen zu unterscheiden (Amerongen und Veerman 2002):

1. Auswirkungen auf die Zahnhartsubstanz und Schleimhäute,
2. Wechselwirkungen mit oralen Mikroorganismen und
3. Verdauungsassoziierte Vorgänge.

Der Speichel beeinflusst durch seinen Mineral- und Glykoproteingehalt (Mucine) die De- und Remineralisationsprozesse der Hartgewebe und den Schutz der Gingiva.

Der Speichel besitzt weiterhin antibakterielle, antivirale und antifungale Funktionen, die durch seinen Gehalt an Amylasen, Cystatinen, Histatinen, Immunglobulinen, Lysozymen, Mucinen und Peroxidasen realisiert werden (Stinson und Levine 1993).

Besonderen Wert für das individuelle Wohlbefinden des Menschen besitzt der Speichel hinsichtlich seiner Aufgaben bei der Nahrungsaufnahme und dem Sprechen. Neben dem großen Wassergehalt spielen Mucine, Statherine und Gustin bei der Befeuchtung der Schleimhäute, der Bolusformung und der Schmier- und Gleitfunktion während des Schluckaktes eine bedeutende Rolle.

## 2.4. Physiologische Aspekte der Speichelsekretion

Die tägliche Gesamtspeichelmenge beträgt — von unterschiedlichen Autoren angegeben — 0,5 bis 1,5 Liter (Humphrey und Williamson 2001).

Betrachtet man die Fließraten im Tagesverlauf, so ist ein zirkadianer Rhythmus festzustellen. Dieser bezieht sich nicht nur auf die Menge des Speichels, sondern auch auf die Zusammensetzung (Dawes 1972).

Eine weitere Varianz der Speichelmenge und -zusammensetzung entsteht durch unterschiedliche Reize bei der Nahrungsaufnahme, deshalb kann zwischen stimuliertem und unstimuliertem Speichel unterschieden werden (Dawes 1969). Tabelle 1 zeigt die anorganischen Bestandteile des unstimulierten und stimulierten Speichels:

Tab. 1: Anorganische Bestandteile in unstimuliertem bzw. stimuliertem Speichel (nach Dawes 2004)

| Bestandteil                            | unstimulierter Speichel | stimulierter Speichel |
|--|-------------------------|-----------------------|
| Wasser (%)                             | 99,4                    | 99,5                  |
| Feststoffe (%)                         | 0,6                     | 0,5                   |
| Na <sup>+</sup> (mmol/l)               | 2 - 26                  | 13 - 80               |
| K <sup>+</sup> (mmol/l)                | 13 - 40                 | 13 - 38               |
| Ca <sup>2+</sup> (mmol/l)              | 0,5 – 2,8               | 0,2 – 4,7             |
| Mg <sup>2+</sup> (mmol/l)              | 0,15 – 0,6              | 0,2 – 0,6             |
| Cl <sup>-</sup> (mmol/l)               | 8 - 40                  | 10 - 56               |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l) | 0.1 – 8,0               | 4 - 40                |
| Phosphat (mmol/l)                      | 2 - 22                  | 1,5 - 25              |
| Thiocyanat (mmol/l)                    | 0,4 – 5,0               | 0,4 – 3,0             |
| I <sup>-</sup> (μmol/l)                | 2 - 22                  | 2 - 30                |
| F <sup>-</sup> (μmol/l)                | 0,2 – 2,8               | 0,8 – 6,3             |

Die Innervation der Speicheldrüsen erfolgt durch Nerven des vegetativen Systems (Garrett 1987). Art und Geschmacksrichtung des Nahrungsstimulus haben Einfluss auf die Speichelfließrate und die Zusammensetzung des Speichels hinsichtlich der Elektrolyte und der Proteine (Spielman 1990, Dawes 1984, Lugaz et al. 2005, Jensdottir et al. 2005b). Diese Varianz in der Zusammensetzung wird durch den unterschiedlichen histologischen Aufbau der Speicheldrüsen realisiert. Alle

Speicheldrüsen besitzen grundsätzlich einen azinären Abschnitt, in dem ein Primärspeichel sezerniert wird. Daran anschließend befindet sich ein Ductussystem unterschiedlicher Länge, in welchem der Primärspeichel modifiziert wird. Beide Vorgänge sind komplex und nicht einer einfachen Filtration des Plasmas gleichzusetzen (Turner und Sugiya 2002). Schematisch soll an dieser Stelle die Produktion des Parotisspeichels dargestellt werden (Abb. 2):

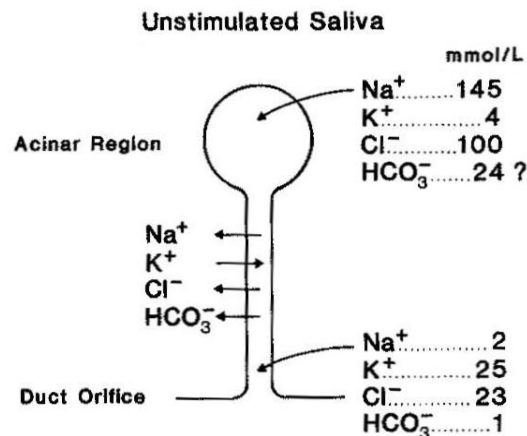


Abb. 2: Veränderung des Mineralgehaltes während der Speichelsekretion und -modifizierung vom Drüsenazinus bis zum Ausführungsgang (nach Dawes 2004)

Vor allem die Rückresorption von Natrium-, Chlorid- und Hydrogenkarbonationen stellt neben der Primärsekretion einen aktiven Prozess dar, so dass bei Stimulation und steigender Fließrate die Konzentrationen bestimmter Ionen nicht nur ab-, sondern auch zunehmen. Bei erhöhter Fließrate erfolgt die Resorption weniger effektiv, so dass z. B. Natrium-, Chlorid- und Karbonationenengehalt nicht auf das Niveau des Ruhespeichels absinken können. Der Gehalt an Kalium-, Phosphat- und Kalziumionen hat einen gegenläufigen Charakter, er sinkt initial und bleibt dann konstant (Dawes 1969).

Der Speichel stellt ein Mischsekret verschiedener Speicheldrüsen dar. An erster Stelle stehen dabei die drei großen, jeweils paarig vorhandenen Speicheldrüsen, die *Glandulae parotideae*, *submandibulares* und *sublinguales*. Weiterhin steuern die zahlreichen kleineren akzessorischen Speicheldrüsen der Schleimhaut von Wangen, Lippen, Gaumen und Zunge Speichelanteile bei (Schiebler 1997).

Elektrophoretisch lässt sich Folgendes unterscheiden: Parotisspeichel imponiert durch seinen Reichtum an Amylase und Prolinreichen Proteinen, jedoch durch sehr

wenige Anteile Cystatin, Lysozym und Glykoproteine, die vermehrt von anderen Speicheldrüsen produziert werden. Parotisspeichel ist ausschließlich serös. Sublingualer Speichel ist durch einen hohen Anteil der Speichelmucine MC1 und MC2 charakterisiert und besitzt eine seromuköse Konsistenz. Submandibulärer Speichel ist mukoserös, in ihm dominiert der höchste Anteil des Speichelcystatins S. Die akzessorischen Speicheldrüsen des Gaumens weisen in ihrem mukösen Speichel einen hohen Anteil hochmolekularer Mucine und Amylase auf (Veerman et al. 1996).

Die geschilderten anorganischen und organischen Bestandteile bestimmen gemeinsam das Pufferverhalten gegenüber chemischen Agenzien mit vom Speichel abweichenden pH-Werten. Dabei spielen Hydrogenkarbonate, Phosphate, Harnstoff und Proteine eine herausragende Rolle (Humphrey und Williamson 2001). Das Hydrogenkarbonatpuffersystem stellt bis zu einem pH-Wert von 5 das effektivste System dar. Der Gehalt im unstimulierten Speichel (5 mmol/l) kann bei Stimulation auf das annähernd Fünffache steigen (24 mmol/l) (Gron und Messer 1965). Da die Mundhöhle ein offenes System darstellt, bestimmt der jeweils vorherrschende Partialdruck den Gehalt an gelöstem CO<sub>2</sub>, was folgende Gleichung zeigt und dem Puffereffekt zu Grunde liegt:



Unter Zuhilfenahme der Henderson-Hasselbalch-Gleichung für Kohlensäure:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$$

und dem Wissen um den pK-Wert der Kohlensäure (6,1 bei 38 °C) (Siggaard-Andersen 1963) wird verständlich, dass dieses Puffersystem im schwach aziden Bereich sein Wirkungsspektrum hat.

Das Phosphatpuffersystem ist pH-abhängig, da verschiedene Dissoziationsgrade der Phosphorsäure ( $\text{H}_3\text{PO}_4 \leftrightarrow \text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{HPO}_4^{2-} + 2\text{H}^+ \leftrightarrow \text{PO}_4^{3-} + 3\text{H}^+$ ) ihren Einfluss durch die einzelnen pK-Werte ausüben. Sein oral-physiologisch bedeutungsvolles Wirkungsmaximum liegt etwa bei pH 7 (Kreusser et al. 1972).

Das Proteinpuffersystem spielt im Bereich von pH 3 bis 7 eine Rolle (Lamanda et al. 2007), da die jeweiligen isoelektrischen Punkte der einzelnen Proteine auf das Pufferverhalten Einfluss nehmen. Im Gesamtspeichel bleibt es mit oder ohne Stimulation annähernd konstant (Banderas-Tarabay et al. 1997), nur in bestimmten

Speichelsorten, z. B. stimuliertem Parotisspeichel, steigt die Proteinkonzentration an (Dawes 1984).

Weiterhin beeinflusst Harnstoff das Pufferverhalten des Speichels, da er von Anteilen der dentalen Plaque zu Ammoniak gespalten werden kann und den intraoralen pH-Wert anhebt (Humphrey und Williamson 2001).

## **2.5. Die speichelinduzierte Pellikel**

Die Proteine des Speichels produzieren innerhalb kürzester Zeit eine Deckschicht auf den natürlichen Zahnoberflächen (Zahradnik et al. 1976, Hay 1967). In der englischsprachigen Literatur wird diese Pellikel auch „acquired pellicle“ genannt. Schon nach wenigen Minuten bildet sie einen Schutz, z. B. vor Säureattacken in der Mundhöhle (Hannig et al. 2004). An der Bildung dieser Barriere sind verschiedene Proteine beteiligt. Folgende Proteine konnten in der Pellikel gefunden werden: Glykoproteine (Mucine), Amylase, Lysozyme, Lactoferrin, Karboanhydrase, Cystatin, Peroxidasen, Immunglobuline und Prolinreiche Proteine (PRP) (Al-Hashimi und Levine 1989). In elektrophoretischen Untersuchungen lassen sich stets gleiche bzw. ähnliche Proteinbanden detektieren, mikroskopisch imponieren jedoch Unterschiede im Vergleich zwischen verschiedenen Pellikeln (Hannig et al. 2005b). Abweichungen bestehen z. B. zwischen Pellikeln verschiedener Regionen in der Mundhöhle (Amaechi et al. 1999) oder Pellikeln unterschiedlichster Bildungszeit (Deimling et al. 2004).

Bukkal imponieren elektronendichte globuläre Strukturen, palatinal eher granuläre, weniger dichte Pellikel. Weiterhin sind die Pellikel hinsichtlich ihrer Dicke zu differenzieren (Deimling et al. 2004). Das Phänomen scheint nicht durch den mechanischen Einfluss der Zunge bedingt zu sein (Amaechi et al. 1999).

Für eine Varianz im biochemischen Spektrum der beteiligten Proteine spricht z. B. die Tatsache, dass es Unterschiede zwischen den Pellikeln von Milch- und bleibenden Zähnen gibt (Sonju Clasen et al. 1997).

Grundsätzlich läuft die Pellikelbildung in Phasen ab. In der ersten initialen Phase adhären bestimmte Proteine am Zahnschmelz durch Aggregation von Proteinkomplexen (Micellen) und durch polare Wechselwirkungen auf der Schmelzoberfläche (Skjorland et al. 1995). In der zweiten Phase kommt es zu einer Reifung der Pellikel. Diese Reifung scheint nach zwei Stunden abgeschlossen zu sein, es kommt dann nur noch zu einem lokalisationspezifischen Dickenwachstum

(Hannig et al. 2005b). Die Resistenz der inneren, dichteren basalen Pellikelschicht gegenüber mechanischen und chemischen Einwirkungen ist größer als die der äußeren, globulären Schicht (Hannig et al. 2005b). Beide Schichten bilden aber keinen dauerhaften Schutz, sie sind permeabel und löslich (Abb. 3).

Nicht außer Acht zu lassen ist der Gehalt des Speichels an Enzymen, die durch Bindung in der Pellikel in ihrer Aktivität modifiziert werden, aber auch während der Pellikelreifung deren Eigenschaften bestimmen bzw. modifizieren (Yao et al. 2001, Hannig et al. 2004, Hannig et al. 2005a).

Die Pellikel fungiert damit als Diffusionsbarriere (Zahradnik et al. 1977), ist aber auch Elektrolytspeicher für Remineralisationsprozesse (Hannig et al. 2005a) und ein selektiver Precursor für Anheftung oraler Mikroorganismen (Hannig et al. 2005a).

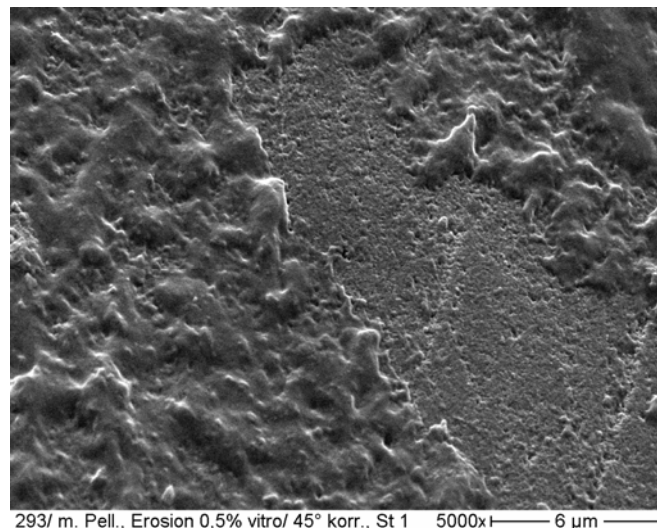


Abb. 3: Nahezu vollständig pellikelbedeckte Schmelzoberfläche nach 30 s Spülung mit NaOCl-Lösung (3,0%ig) und moderater Reinigung mittels weicher Zahnbürste (5.000fach vergrößert)

## 2.6. Verlust von Zahnhartsubstanzen – tooth wear

Der Verlust von Zahnhartsubstanz ist kein Phänomen der Neuzeit; schon Untersuchungen an menschlichen Schädeln des Mesolithikums bis zur Bronzezeit weisen deutliche Abnutzungsspuren an natürlichen Zähnen auf (Schemel et al. 1985). Die stetige Zunahme der Abnutzungserscheinungen jener Epochen ist dabei auf die steigende Lebenserwartung und den steigenden Verzehr von Brot zurückzuführen. Das Brot enthielt wie andere Nahrungsmittel dieser Zeit Verunreinigungen und besaß einen erheblichen Anteil an schlecht ausgemahlenem Getreide, was zu einer verstärkten Abnutzung der Zahnhartsubstanz führte. Seit der



Industrialisierung und dem Vormarsch raffinierter Nahrungsmittel änderte sich die Genese des Verlustes der Zahnhartsubstanz (Addy und Shellis 2006). Mit dem Rückgang der Karies (caries decline) im letzten Jahrhundert imponieren nunmehr in größerem Maß pathologische, nonbakterielle, säureinduzierte Oberflächen-erweichungen und Substanzverluste (Jarvinen et al. 1991). Damit nimmt die Resistenz des Zahnschmelzes gegenüber chemischen Agenzien eine besondere Rolle im Ursachenkomplex des Hartsubstanzverlustes ein (Eccles und Jenkins 1974).

## 2.7. Klinisches Bild des Hartsubstanzverlustes

Der Verlust von Zahnhartsubstanz kann unterschiedliche Ursachen haben. In klinischen Fällen liegt meist keine monokausale Ätiologie zu Grunde, vielmehr wirken verschiedene Einflüsse gleichzeitig (Addy und Shellis 2006). Der Hartsubstanzverlust, im englischen Sprachgebrauch auch als „tooth wear“ bezeichnet, lässt sich nach folgenden Vorgängen unterscheiden:

Die *Attrition* steht für die physiologische Abnutzung der Zähne durch den antagonistischen Kontakt ohne eine Beteiligung eines Zwischenmediums (Imfeld 1996). Eine pathologische Form der Attrition stellen patientenindividuelle Gewohnheiten mit Zahn-Zahn-Kontakten (z. B. Bruxismus) dar. Sowohl die physiologischen als auch pathophysiologischen Vorgänge werden durch Flüssigkeiten (Speichel, Säuren) modifiziert (Eisenburger und Addy 2002).

Die *Abrasionen* sind Abtragungsprozesse, die von den Zahn-Zahn-Kontakten abweichend ein abrasives (Zwischen-)Medium verlangen (Addy und Shellis 2006), das für den anamnestisch Tätigen unterschiedlichste Konsistenzen haben kann. Mikroskopisch handelt es sich stets um feste Partikel, die je nach ihrer Größe, Oberflächenbeschaffenheit und Härte zu Oberflächenbeschädigungen am Zahn führen und grundsätzlich mit einem Schleifvorgang vergleichbar sind. Dabei können die Schleifkörper in Suspensionen, Breis und teigigen Darreichungen oder in „trockenen“ Gemengen wie Pulvern, Mehlen oder Stäuben enthalten sein. Die abrasiven Partikel sind unterschiedlichsten Quellen zuzuordnen. So zeichnen sich verschiedene Nahrungsmittel (Prinz 2004) durch einen nicht unerheblichen Anteil an „Schleifmittel“ aus. Der Kauakt während der Nahrungsaufnahme stellt somit eine

Kombination aus Attrition und Abrasion dar. Dabei fungiert während der Mastikation die Nahrung als abrasives Medium, zusätzlich sind die Zahnoberflächen physiologischerweise kurzzeitig in direktem Kontakt. Aber die Palette abrasiver Medien reicht deutlich weiter. Neben einer beruflichen Exposition (Tuominen und Tuominen 1991) fungieren selbst zahnmedizinisch-spezifische Substanzen als abrasive Medien. An erster Stelle stehen hier die Zahnpasten. Durch individuelle Varianz der Putztechnik und der verwendeten Zahnpaste und Zahnbürste können erhebliche Substanzverluste provoziert werden (Dyer et al. 2000). Auch zahnärztliche Polierpasten und Pulverstrahlmittel haben ein abrasives Potential (Jost-Brinkmann 1998).

Die *Abfraktion* beschreibt speziell den Verlust von Zahnhartsubstanzen im Zahnhalsbereich. Initial kommt es dabei zu Abplatzungen von Zahnschmelz in geringsten Mengen durch teils exzentrisch gerichtete Kräfte während der Mastikation oder Parafunktionen (Lee und Eakle 1984). Multifaktoriell ist im weiteren Verlauf dieser Prozess gefördert durch abrasive Vorgänge (z. B. während des Zähneputzens) und erosive Attacken (Säureeinwirkungen jeglicher Art) (Grippio et al. 2004).

Die vierte Gruppe nichtinfektiöser Hartsubstanzverluste ist die *Erosion*.

Anhand des klinischen Erscheinungsbildes des erosiven Hartsubstanzverlustes ist eine eindeutige Kausalität schwer festzustellen. Sehr frühe Stadien sind meist gar nicht zu diagnostizieren. Somit kann lediglich das Ausmaß des Substanzverlustes, angelehnt an bestimmte Indizes, ermittelt werden. 1974 klassifizierte Eccles folgendermaßen:

Klasse I - oberflächliche Erosion, auf den Zahnschmelz begrenzt

Klasse II - lokalisierte Läsion, weniger als ein Drittel mit Dentinbeteiligung

Klasse III - generalisierte Läsionen, mehr als ein Drittel mit Dentinbeteiligung.

Später wurden weitere Indizes publiziert, so z. B. 1984 durch Smith und Knight und 1992 durch Lussi et al.

Eine Einteilung nach der Aktivität der erosiven Läsionen stellte Mannerberg (1961) auf. Er teilte die Erosionen in manifeste und latente. Eine latente oder inaktive Erosion stellt nach Mannerberg eine stagnierende Entmineralisierung dar, die durch geänderte ätiologische Faktoren zum (zeitweiligen) Stillstand gekommen ist. In

Aufnahmen mit dem Rasterelektronenmikroskop sind dabei keine gleichmäßigen geometrischen Strukturen zu finden. Dagegen ist eine manifeste Erosion im Rasterelektronenmikroskop durch ihre honigwabenartige Struktur des Schmelzes zu erkennen, und es sind nur sehr kleine, unveränderte Grenzzonen zwischen Schmelz und Dentin zu finden (Schweizer-Hirt et al. 1978). Diese Art der erosiven Läsion wird von den Autoren als aktiv und progressiv eingestuft.

## 2.8. Erosionschemie

Der Zahnschmelz als kristalline und größtenteils anorganische Substanz ist anfällig gegenüber sauren Agenzien oder Chelatbildnern (Eccles 1982).

Sauer heißt in diesem Zusammenhang, dass der pH-Wert eines Stoffs bzw. seiner Lösung kleiner als 7 ist. Die Säureanfälligkeit des Zahnschmelzes ist Folge des molekularen Aufbaus und der chemischen Zusammensetzung. Grundsätzlich bildet die Hauptmasse des Schmelzes Hydroxylapatit  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (HAP), wobei real im Schmelz das Kristall unterkalzifiziert ( $\text{Ca}_{10-x}$ ) und anstelle des Phosphates karboxyliert  $(\text{CO}_3)_y$  ist. Die Bindungspositionen des Kalziums können durch Magnesium-, Kalium- und Natriumionen ersetzt und die  $\text{OH}^-$ -Gruppen können durch Fluoridionen ausgetauscht sein. All diese Details führen zu einem nonperfekten Gefüge, welches im Zusammenhang mit dem Wasser-, Lipid- und Proteinanteil des Schmelzes einen Angriffspunkt für chemische Agenzien darstellt (LeGeros 1991). Im Verlauf einer Säureattacke bilden die letztgenannten Strukturen die Diffusionswege für die Protonen oder Komplexbildner. Durch eindringende Säure (Protonen) werden initial die Phosphatgruppen protonisiert und die Bindung zu den Kationen im Kristallgefüge geschwächt bzw. aufgehoben. Unter oberflächlicher Auflösung der Kristallstruktur gehen die Bestandteile  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^{1-}$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{F}^-$  in Lösung, solange lokal keine gesättigte Lösung hinsichtlich der einzelnen Mineralien vorherrscht (Stößer 2006).

Ein zweiter Prozess, der das Kristallgefüge zerstört, ist die Komplex- und Chelatbildung von Agenzien mit den Kalziumionen. Hier zeigt sich die Problematik einiger Säuren, deren Wirkung sowohl im Angriff der Protonen, als auch in der Komplexbildung ihres anionischen Anteils mit den Kalziumionen des HAP liegt. Dieses Phänomen liegt z. B. der stark erosiven Wirkung der Zitronensäure zu Grunde, obwohl die Chelatbildung an basische pH-Werte geknüpft ist (Featherstone und Lussi 2006, Abb. 4).

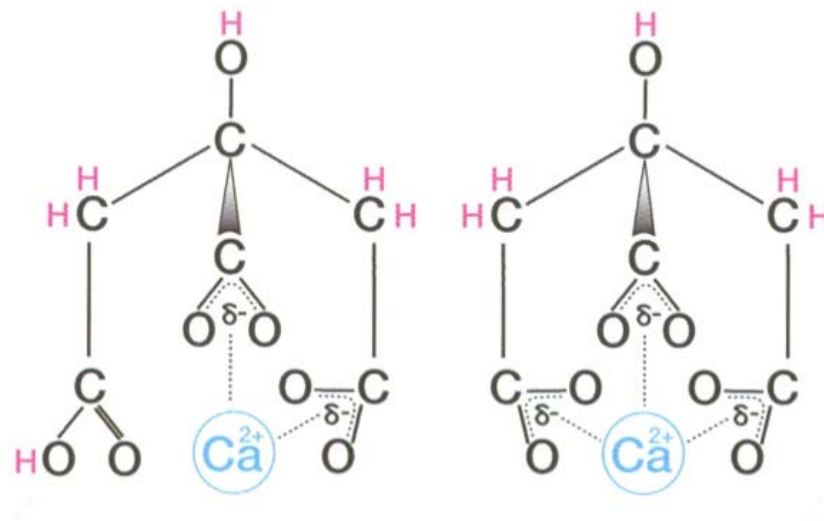


Abb. 4: Chelatbindung eines Kalziumions an einen Zitratrest, links nach Dissoziation von zwei Karboxylgruppen und rechts bei Dissoziation aller Karboxylgruppen im basischen Milieu, nach Featherstone und Lussi 2006

Die Löslichkeit des Schmelzes lässt sich durch das Löslichkeitsprodukt des Hydroxylapatits charakterisieren. Featherstone und Lussi (2006) stellten die pH-Abhängigkeit dieser Naturkonstante zusammenfassend dar (Abb. 5).

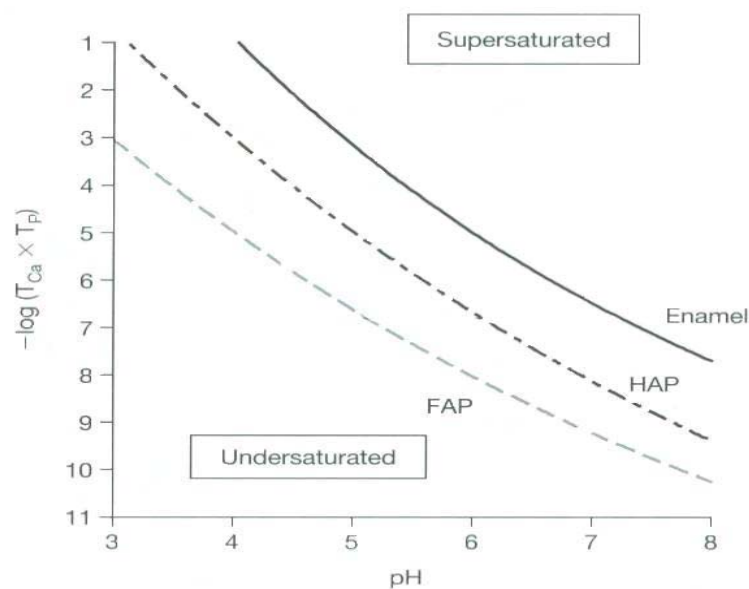


Abb. 5: Löslichkeit von Fluorapatit (FAP), Hydroxylapatit (HAP) und Schmelz in Abhängigkeit vom pH-Wert (T sind die tatsächlichen Konzentrationen von Kalzium und Phosphat in der Lösung), nach Featherstone und Lussi 2006

Bei einer definierten Kalzium- und Phosphatkonzentration bestimmt der pH-Wert einer Lösung deren Ionenprodukt und damit die Sättigung für Kalzium- und

Phosphationen. Daraus folgt, dass das erosive Potential eines Mediums mit niedrigem pH-Wert durch Zugabe von Kalzium und Phosphat gemindert werden kann (Hooper et al. 2004, Jensdottir et al. 2005a). Lussi und Jaeggi erwähnen 2006 dieses Phänomen in der Kategorie „chemical factor“, zu dem sie weitere chemische Aspekte wie den Fluoridgehalt, den Säuretyp ( $pK_a$ -Wert), die Pufferkapazität sowie die orale Clearance von Nahrungsmitteln und Getränken zählen. Eine Sonderstellung nimmt in dieser Hinsicht eine Kalziumfluoridschicht auf äußeren Zahnoberflächen ein, die nach lokaler Fluoridapplikation entsteht. Sie kann dem Säureangriff nicht standhalten, dient aber als „Opferschicht“ für die unter ihr liegenden Schmelzschichten (Ganss et al. 2001 und 2007).

## **2.9. Speicheleinfluss auf erosive Prozesse**

Der Speichel modifiziert die chemischen Faktoren der erosiven Attacke durch mehrere Eigenschaften (Hara et al. 2006):

1. Spül- und Verdünnungsfunktion
2. Pufferfunktion
3. Barrierefunktion (Pellikel).

Die Spülfunktion spielt schon vor dem eigentlichen Säurekontakt der Mundhöhle eine Rolle, denn der psychologische Stimulus des bevorstehenden Ereignisses bedingt ein Ansteigen der Fließrate (Lee und Linden 1992). Die Pufferfunktion erhöht sich mit ansteigender Fließrate (Bardow et al. 2000) während des Verzehrs von Nahrungsmitteln und Getränken. Höhere Fließraten mit höheren Pufferkapazitäten führen in der Regel zur Minderung des erosiven Potentials (Gudmundsson et al. 1995).

Die Barrierefunktion erfüllt der Speichel durch die Bildung der Pellikel, deren Schutzfunktion hinreichend belegt ist (Hannig und Balz 1999 und 2001, Meurman und ten Cate 1996, Nekrashevych und Stößer 2003, Hannig et al. 2004, Nekrashevych et al. 2004).

Die protektiven Eigenschaften des Speichels können durch Krankheiten und Medikamente (Tredwin et al. 2005) beeinträchtigt werden und zu einem erhöhten Erosionsrisiko führen. Meist ist die Fließrate stark verringert, wie es z. B. beim Sjögren-Syndrom oder ähnlichen Erkrankungen der Fall ist (Young et al. 2001). Einen ähnlichen Effekt beschreiben Eisbruch et al. (2003) in Fällen von Radiatio und Resektionstherapien nach Tumorerkrankungen. Das Ansteigen der kariösen

Läsionen durch Xerostomie dominiert in diesen Fällen. Weiterhin imponieren gestörte Speichelfunktionen bei Krankheiten, die direkten Einfluss auf den Wasserhaushalt des Körpers und damit auf die Fließrate und Konsistenz des Speichels haben (z. B. dialysepflichtige Erkrankungen (Bots et al. 2007)).

## **2.10. Die Individualität der Erosion**

Die Individualität des einzelnen Menschen nimmt eine besondere Rolle im Rahmen der Erosion ein, denn dieser Prozess fällt auf Grund unterschiedlicher physiologischer, pathologischer und habitueller Gegebenheiten sehr different aus (Zero und Lussi 2006).

Grundsätzlich sind bei der Betrachtungsweise der exogene und/oder endogene Ursprung der einwirkenden Säure und die Frequenz der einzelnen Säureattacken bedeutungsvoll.

### **2.10.1. Intrinsische Säuren**

Als endogene bzw. intrinsische Quelle ist an erster Stelle der saure Inhalt des Magens zu nennen. Die Regurgitation kann verschiedene Ursachen haben und führt zu einem typischen Erosionsmuster (Bartlett 2006), das vordergründig die Palatinalflächen im Oberkieferschneidezahngebiet betrifft (Smith und Knight 1984b) und ursprünglich als Perimyolysis (Holst und Lange 1939) bezeichnet wurde. Als häufigste Störung ist der gastro-oesophageale Reflux (Jarvinen et al. 1988) zu nennen, andere Krankheitsbilder, die mit Regurgitation/Reflux des Mageninhaltes einhergehen, sind Essstörungen wie Bulimie (Rytomaa et al. 1998) und Anorexia nervosa (Hellstrom 1977) sowie chronischer Alkoholismus (Robb und Smith 1990). Die modifizierende Rolle des Speichels ist durch die Primärerkrankungen in seinen Eigenschaften abgeschwächt (Bartlett 2006).

### **2.10.2. Extrinsische Säuren**

Säuren exogener bzw. extrinsischer Quellen sind weitaus mannigfaltiger. Sie treten als feste und flüssige Nahrungsbestandteile, Medikamente, berufliche und andere individuelle Expositionen auf (Zero 1996).

Nur wenige Medikamente wirken primär erosiv, so z. B. Vitamin C-Präparate (Meurman und Murtomaa 1986), Asthasprays und bestimmte Darreichungsformen (Pulver, Kautabletten), z. B. von ASS (Hellwig und Lussi 2006), Mundspüllösungen

(Rytomaa et al. 1989) und selbst Präparate gegen Mundtrockenheit (Kielbassa und Meyer-Lueckel 2001). Eine erhebliche Anzahl beeinflusst die Speichelsekretion und kann so mittelbar Erosionen begünstigen (Tredwin et al. 2005).

Berufliche Expositionen stellen Tätigkeiten mit sauren Medien dar (ten Bruggen Cate 1968, Tuominen und Tuominen 1991, Chikte et al. 2005). Aber auch besondere Konstellationen führen zu Erosionen, wie z. B. vermehrter Kontakt mit chloridiertem Wasser in Schwimmbädern im Rahmen des Leistungssports (Centerwall et al. 1986). Schließlich beeinflusst der Lebensstil das Erosionsrisiko (Zero und Lussi 2006), unter anderem führt ein exzessiver Drogenkonsum vermehrt zu Erosionserscheinungen (Richards und Brofeldt 2000).

Den überwiegenden Teil des individuellen Erosionsrisikos bedingt jedoch der Genuss erosiver Getränke und Nahrungsmittel. Der aktuell propagierte gesunde Lebensstil birgt paradoxerweise erosive Risiken in sich (Zero und Lussi 2006), da die erhöhte Aufnahme von Zitrusfrüchten (Ganss et al. 1999), der vermehrte Genuss so genannter „sport drinks“ (Milosevic 1997, Coombes 2005) und die Dehydrierung bei sportlicher Aktivität (Walsh et al. 2004) mit Erosionen assoziiert werden. Allerdings wird das erosive Potential *in situ* kontrovers diskutiert (Venables et al. 2005).

Auch fernab jeglicher sportlicher Betätigung spielt momentan der stets steigende Genuss von kohlensäurehaltigen Erfrischungsgetränken eine große Rolle. Das zeigt sich auch in Phänomenen des Erosionszuwachses bei Kindern und Jugendlichen (Al-Majed et al. 2002). Deshalb ist die Zahl der Publikationen zum erosiven Potential säurehaltiger Erfrischungsgetränke zunehmend (Lupi-Pegurier et al. 2003, Van Eygen et al. 2005, Owens 2007, Jager et al. 2008, Hara und Lussi 2008, Hunter et al. 2008).

### **2.10.3. Erosives Potential von Süßwaren**

Eine deutlich geringere Anzahl von Untersuchungen beschäftigt sich mit dem erosiven Potential von Süßwaren - ein Aspekt, der neben dem steigenden Genuss von „Softdrinks“ den Anstieg erosiver Prozesse erklären kann (Jensdottir et al. 2005b). Nach Lussi et al. (1997) sind nicht ausreichend epidemiologische Untersuchungen vorhanden, um die Zunahme erosiver Prozesse und deren Ursache eindeutig zu erklären. Somit sind Erosionen durch saure Süßwaren nicht auszuschließen. Derzeitig können Süßwaren nur dann als nichterosiv gekennzeichnet werden, wenn sie im Zusammenhang mit ihrer Signierung im Auftrag

der „Aktion zahnfreundlich“ e. V. mit intraoraler pH-Messtechnik (Telemetrie) getestet wurden und ein bestimmtes Säurelimit dabei nicht überschritten wurde. Die Non-Kariogenität der Süßware wird an einer mit Plaque bewachsener Elektrode und ausbleibender Stephan-Kurve durch den Zuckeraustausch ermittelt. Die Non-Erosivität wird bei einer Säuremenge von 40  $\mu\text{mol/l}$  in 15 Minuten während und nach Konsum angenommen. Dies entspricht einem pH-Wert von 5,0 über 4 Minuten und wird bei intraoraler Messung an einer plaquefreien, sauberen Elektrode gemessen und aus der pH-Kurve berechnet. Süßwaren mit diesen beiden Eigenschaften können als „zahnfreundlich“ mit dem Signet des beschirmten Backenzahnes gekennzeichnet werden.



### 3. Zielstellung

Eine große Zahl von Untersuchungen seit Mitte des letzten Jahrhunderts (Mc und Will 1949) beschäftigt sich mit Erosionsvorgängen im menschlichen Gebiss. Den meisten Experimenten und Untersuchungen liegen als erosives Medium wässrige Lösungen verschiedener Säuren zu Grunde (Cairns et al. 2002). Weitere Publikationen beschäftigen sich mit Expositionen bestimmter Personengruppen hinsichtlich ihrer Erkrankungen, beruflichen Tätigkeiten oder Freizeitbeschäftigungen (Christensen 2002, Chikte et al. 2005, Amin et al. 2001, Featherstone und Lussi 2006, Tredwin et al. 2005).

Jedoch haben nur wenige Arbeiten einen Bezug auf den habituellen Genuss süßsaurer Candies (Jensdottir et al. 2005b), die aufgrund ihres Gehaltes an organischen Säuren eine fortschreitende Oberflächenerweichung am menschlichen Zahnschmelz bedingen können. Die Population, die hierdurch einem zusätzlichen erosiven Risiko ausgesetzt ist, stellen neben Erwachsenen besonders Kinder und Jugendliche dar (Nunn et al. 2003). Diesbezüglich können Erosionsuntersuchungen einen Beitrag zur Prävention irreversibler Zahnhartsubstanzverluste leisten.

Das Ziel vorliegender Arbeit war es, die erosiven Einflüsse von Candies mit steigendem Zitronensäuregehalt zu quantifizieren. Im Speziellen sollte während des Genusses der pH-Wert in der Mundhöhle registriert und aufgezeichnet werden, Zusammenhänge zu messbaren Oberflächenveränderungen am Zahnschmelz waren zu verifizieren. Parallel hierzu wurde der erosionsprotektive Wert der Pellikel in die Studie einbezogen.

Folgende Fragestellungen wurden mit Zitronensäurekonzentrationen von 0,5 % bis 2,0 % in Candies näher untersucht:

1. Wie weit sinkt der pH-Wert in der Mundhöhle bei Genuss säurehaltiger Candies ab?
2. Wie groß sind die tatsächlich wirksamen intraoralen Säurekonzentrationen?
3. Verändert der Genuss saurer Lutschwarte die Zahnschmelzoberfläche?
4. Gibt es direkte Zusammenhänge zwischen den Zitronensäurekonzentrationen der Candies und Oberflächenveränderungen am Zahnschmelz?

5. Ist der pH-Wert geeignet, um das erosive Potential verschiedener Zitronensäurekonzentrationen einzuschätzen?
6. Welche Möglichkeiten der pH-Messung bestehen während des Genusses saurer Produkte, um ihr erosives Potential verlässlich einzuschätzen?
7. Gibt es beim Verzehr saurer Lutschwaren erosionsprotektive Einflüsse durch eine speichelinduzierte Pellikula auf der Zahnschmelzoberfläche?
8. Gibt es Richtwerte, um Erosionen durch Nahrungs- und Genussmittel auszuschließen?

## 4. Material und Methode

### 4.1. Material

Als Untersuchungsmaterial diente boviner Zahnschmelz und als saures Medium zuckerfreie Candies mit verschiedenen Zitronensäurekonzentrationen bzw. deren Lösungen.

#### 4.1.1. Zahnschmelz

Der bovine Zahnschmelz wurde aus anterioren Segmenten von Rinderunterkiefern (Schlachthof, Jena) gewonnen (Abb. 6). Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Schlachtung in der Regel 1,5 bis 2 Jahre alt. Die Aufbewahrung der Kiefer bis zur Probenpräparation erfolgte tiefgekühlt bei -18 °C.



Abb. 6: Frontales Segment eines Rinderunterkiefers

##### 4.1.1.1. Aufbereitung/Präparation des Zahnschmelzes

Im ersten Schritt wurden unter Wasserkühlung und mit einer Diamanttrennscheibe (ISO 806 140, Meisinger, Neuss) bis zu 6 Kronen der Unterkieferschneidezähne an ihrer Schmelz-Zement-Grenze getrennt. Danach wurden makroskopisch oberflächenplane Anteile der vestibulären Schmelzoberfläche ausgewählt und Schmelz-Dentin-Blöcke wiederum unter Wasserkühlung mit einer Trennscheibe (ISO 340 C 190, Meisinger, Neuss) rechteckig herausgelöst. Die Kantenlänge der Schmelz-Dentin-Blöcke betrug ca. 3–5 mm.

Die vestibulären Flächen der Rinderinzisivi waren ausreichend groß, um pro Zahn durchschnittlich jeweils zwei Proben zu gewinnen.

Danach wurden die gewonnenen Schmelz-Dentin-Blöcke für 10 Minuten in einem Ultraschallbad (Sonorex RK 52 H, Bandelin electronic, Berlin) gereinigt. Als flüssiges Medium diente Wasser (zur Analyse, Titripac Merck, Darmstadt).

Die Schmelz-Dentin-Blöcke wurden bis zur Einbettung in 0,9%iger Kochsalzlösung mit Natriumacid (0,1 %, Merck, Darmstadt) zur Inhibierung des Bakterienwachstums gekühlt bei 4 °C aufbewahrt.

In weiterer Folge wurden die vorbereiteten Schmelz-Dentin-Blöcke in einen glasklaren Kunststoff (Epofix Resin, Struers, Dänemark) eingebettet; der ehemals vestibuläre Anteil der Schmelzblöcke wurde nicht überschichtet, um sie für Bearbeitung und Untersuchung weiterhin zugänglich zu halten (Abb. 7).



Abb. 7: Prüfkörper; in Epoxidharz eingebetteter Rinderzahnschmelz, (Auf- und Seitenansicht)

#### 4.1.1.2. Politur der Zahnschmelzproben

Die freiliegenden Schmelzareale wurden nachfolgend gereinigt, geglättet und poliert; dazu diente eine Nassschleifapparatur mit Wasserkühlung (metasinex, Optische Werke, Rathenow; Abb. 8).



Abb. 8: Nassschleifapparatur; links in toto, rechts handgeführte Probenglättung und -politur unter Wasserkühlung

Die Reinigung erfolgte durch Bearbeitung der Proben mit wasserfestem Silikonkarbundsleifpapier (Struers, Dänemark), Körnung 1200 für ca. 10 Sekunden. Im Anschluss wurde eine Glättung der Oberfläche mit Schleifpapier der Körnung 2400 durchgeführt, die Bearbeitungszeit lag dabei bei ca. zwei Minuten. Abschließend wurde eine Politur mit Schleifpapier der Körnung 4000 ebenfalls für ca. zwei Minuten vorgenommen.

Der Bearbeitungserfolg wurde subjektiv auflichtmikroskopisch (Universalmikroskop Axiotech Carl Zeiss, Jena) bewertet, Augenmerk galt dabei der Harzfreiheit der Schmelzoberfläche und einer hinreichend geringen Anzahl tiefer Kratzspuren und Schmelzsprünge.

Weiterhin wurden stichprobenartig Proben vor und nach der Bearbeitungsprozedur in ihrer Höhe vermessen, um einen Substanzabtrag über 200 µm auszuschließen (Messung per Schnelltester ODID Kroeplin Messzeugfabrik GmbH, Schlüchtern).

Bis zu folgenden Untersuchungen wurden die Proben gekühlt (4 °C) und in oben genannter Kochsalzlösung aufbewahrt.

#### 4.1.1.3. Pellikelbildung

Die speichelinduzierten Pellikel wurden durch 24-stündiges Tragen der Zahnschmelzproben *in situ* durch den Probanden der Hauptversuche gebildet. Dabei wurde eine abnehmbare Apparatur verwendet, in der jeweils gleichzeitig bis zu vier Prüfkörper vestibulär im Unterkiefer regio 34 bis 36 bzw. 44 bis 46 positioniert werden konnten (Abb. 9 und 10). Zur Nahrungsaufnahme und Mundhygiene wurde die Apparatur aus dem Mund entfernt und während dieser Zeiten in einem Behältnis feucht gelagert (Hygrophor).



Abb. 9: Apparatur zum Tragen der Prüfkörper auf dem Modell, links in toto, rechts die Öffnungen für die Prüfkörper vergrößert



Abb. 10: Apparatur *in situ* mit Prüfkörpern, links Darstellung in toto, rechts vergrößerte Darstellung der platzierten Prüfkörper

#### 4.1.2. Saure Candies

Die verwendeten Candies wurden von der Firma Sulá GmbH (48629 Metelen) mit steigender Zitronensäurekonzentration von **0,5, 1,0, 1,25, 1,5, 2,0** und **2,5** Prozent hergestellt. Weiterer Bestandteil der Bonbons war ausschließlich nur Sorbit, aber keine anderen durch Mikroorganismen vergärbaren Kohlenhydrate.

#### 4.1.3. Proband

Alle *In-situ*-Versuche wurden ausschließlich im Selbstversuch durchgeführt. Der Proband war männlich und zum Zeitpunkt der Untersuchungen 33 Jahre alt. Es lagen keine Allgemeinerkrankungen vor. Klinisch imponierte ein DMFT von 2.

### 4.2. Methoden

Nach vorausgegangenen Vorversuchen folgten Experimente, die grundlegend in Untersuchungen zur Beeinflussung des Speichelflusses durch saure Candies und mikromorphologische Untersuchungen bovinen Zahnschmelzes während bzw. nach Einwirkung saurer Candies zu gliedern sind.

#### 4.2.1. Speichelassoziierte Untersuchungen

##### 4.2.1.1. Ermittlung von Speichelfließraten

Alle Speichelproben wurden mit einer Feinwaage MC 1 Typ KB BA 100 (Satorius AG, Göttingen) gewogen (Abb. 11).





Abb. 11: Feinwaage; links in Ruhe, rechts bei Bestimmung der Masse einer Speichelprobe

#### 4.2.1.2. Ruhespeichel

Der Ruhespeichel wurde stets vor den Lutschversuchen über jeweils drei Minuten in einem Becherglas gesammelt und nach Massebestimmung die Ruhefließrate in ml/min ermittelt. Die Messungen wurden stets dreifach ausgeführt und der Mittelwert berechnet.

#### 4.2.1.3. Messung der durch Candies stimulierten Speichelmenge

Der Speichel wurde während des Lutschens der Candies durch den Probanden nicht geschluckt, sondern in ein Becherglas gespuckt und jeweils in 60-s-Intervallen gesammelt. Die ermittelte Masse des sezernierten Speichels enthielt den gelösten Anteil des gerade konsumierten Candies. Aus jeweils drei Messwerten wurde der Mittelwert gebildet. Des Weiteren konnten aus Speichel- und Candymengen in 60-s-Intervallen effektive Zitronensäurekonzentrationen errechnet werden, hierbei wurde folgende Verhältnisgleichung genutzt:

$$m_{\text{Zitr.s}} \cdot c_{\text{wirk}}^{-1} = m_{\text{ges}} \cdot 100^{-1}$$

Die aufgeführten Zeichen stehen dabei für folgende Größen:

- $c_{\text{wirk}}$  → Zitronensäurekonzentration in wässriger bzw. Speichelsuspension
- $c_{\text{Drops}}$  → Zitronensäurekonzentration pro Drops
- $m_{\text{zitr.s.}}$  → wirksame Zitronensäuremenge
- $m_{\text{ges}}$  → Menge des Speichel und gelöster Candyanteile
- $m_{\text{gelöst}}$  → aufgelöster Candyanteil.

Nach Einsetzen und Umstellen der Verhältnisgleichung ergab sich:

$$C_{\text{wirk}} = m_{\text{Zitr.s.}} \cdot 100 \cdot m_{\text{ges}}^{-1}$$

$$C_{\text{wirk}} = (m_{\text{gelöst}} \cdot 0,01 \cdot c_{\text{Drops}}) \cdot 100 \cdot m_{\text{ges}}^{-1}$$

$$C_{\text{wirk}} = m_{\text{gelöst}} \cdot c_{\text{Drops}} \cdot m_{\text{ges}}^{-1}.$$

#### 4.2.2. pH-Bestimmung des Speichels

Die Ermittlung der pH-Werte im Speichel und in Lösungen aus Candies mit Speichel oder Wasser erfolgte an einem Präzisions-pH-Meter pH 522 (WTW Weilheim i. OB) mit einer pH-Einstabmesskette N 580 A (Schott-Geräte GmbH, Hofheim a. Ts.), die mit Standardpuffer pH 4,01 und 7,00 geeicht wurde.

Es wurden extra- und intraorale pH-Messungen vorgenommen.

##### 4.2.2.1. Extraorale pH-Werterfassung

Zur extraoralen Erfassung wurde der Speichel in Safe-lock Eppendorfgefäßen (Eppendorf GmbH, Hamburg) gesammelt und der pH-Wert unmittelbar nach dem Sammeln bestimmt (Abb. 12). Die Messungen ( $n = 3$  pro Messreihe) wurden zu Mittelwerten zusammengefasst.

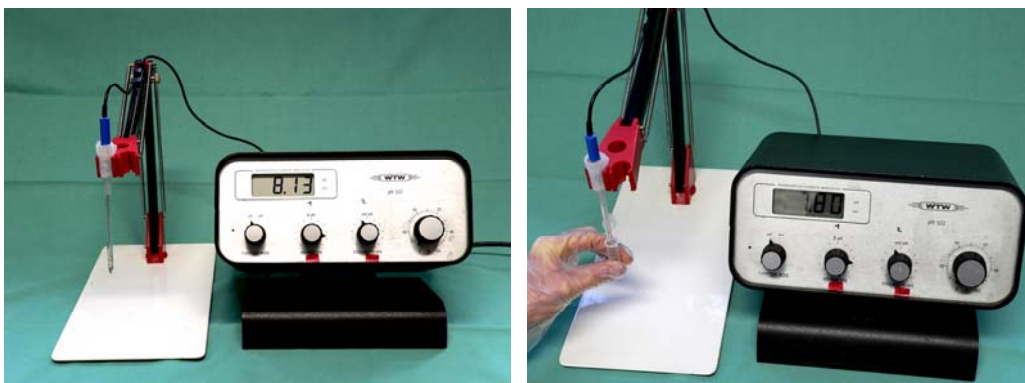


Abb. 12: pH-Meter inkl. Glaselektrode; links in Ruhe, rechts bei der Messung eines Speichel-pH-Wertes in einem Eppendorfgefäß

##### 4.2.2.2. Intraorale pH-Messung

Die intraoralen Bestimmungen wurden ebenfalls mit der Einstabmesskette N 580 A (Schott-Geräte GmbH, Hofheim a. Ts.) *in situ* in 60-s-Intervallen am seitlichen befeuchteten Zungenrand lingual der Unterkieferzahnreihe in regio 44 bis 46 durchgeführt (Abb. 13). Somit befand sich die Elektrode an jener Stelle lingual, gegenüber der sich die Rinderzahnschmelzproben während intraoraler



Erosionsmessungen vestibulär befanden. Die Messungen wurden wiederum als Dreifachbestimmung ausgeführt.



Abb. 13: Intraorale pH-Messung mit einer Glaselektrode

#### **4.2.3. Intraorale pH-Wert-Messung - Telemetrie**

##### **4.2.3.1. Probanden**

Diese Messungen wurden an Probanden durchgeführt, die im Rahmen von Produktprüfungen für das Prädikat „zahnfreundlich“ bereits der Poliklinik für Präventive Zahnheilkunde zur Verfügung standen. Bei den Probanden handelte es sich um drei gesunde Patienten im Alter zwischen 68 und 83 Jahren.

##### **4.2.3.2. Messmethode**

Ursprünglich wurde dieses Verfahren 1965/68 (Graf) publiziert und dient einer schnellen und zuverlässigen intraoralen Plaque-pH-Messung nach Aufnahme kohlenhydrathaltiger Nahrungsmittel, um so die Kariogenität einer Substanz zu ermitteln. Im weiteren Verlauf wurde die Methode durch Imfeld 1983 detailliert beschrieben und ab 1990 durch Stößer und Tietze modifiziert. Der apparative Aufwand umfasst:

- eine probandenspezifische individuelle Messprothese
- ein pH-Meter
- ein Erfassungssystem zur Registrierung und Auswertung.

#### 4.2.3.3. Messprothese

Dabei handelte es sich um individuelle abnehmbare Apparaturen mit Modellgussbasis im Unterkiefer, bei denen vorhandene Schatlücken zur Unterbringung einer Miniaturglaselektrode (Sensortechnik Meinsberg, Deutschland) genutzt wurden. Im Regelfall war dabei die Elektrode im Approximalraum so platziert, dass sie auf die distale Fläche eines lückenbegrenzenden Prämolaren gerichtet war (Abb. 14).

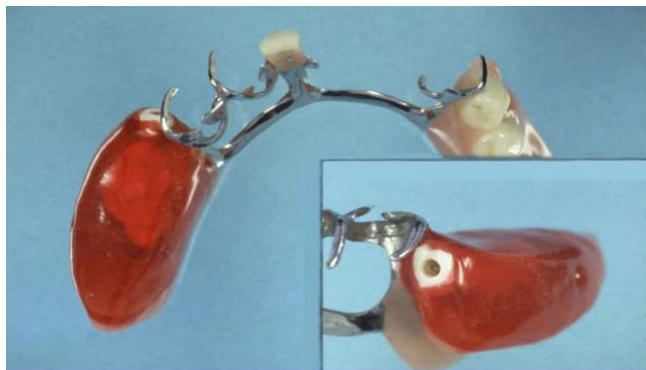


Abb. 14: Individuelle Messprothese für telemetrische pH-Erfassung nach Stößer (2006); groß in toto, Ausschnitt Elektrode, umgeben von einem Schmelzsplint und eingegossen in einen Sattelanteil aus Kunststoff

Referenzelektrode war eine selbstklebende Hautelektrode mit einem Ag/AgCl-System (Ambu, Blue Sensor NF50K, Ølstykke, Dänemark). Für plaqueassoziierte Messungen wurden diese Apparaturen bis zu vier Tage durch die Probanden getragen. Im Gegensatz dazu wurden die Erosionsmessungen mit einer plaquefreien Elektrode durchgeführt.

#### 4.2.3.4. Mess- und Auswertungssystem

Zur Erfassung und Auswertung des Messpotentials diente ein Computermessplatz. Nachdem das Potential der Elektrode in eine spannungsabhängige Frequenz umgewandelt und optoelektronisch erfasst wurde, konnten Mittelwerte in vorgegebenen Zeitintervallen errechnet werden.

Per definitionem entspricht der pH-Wert dem negativen dekadischen Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration, wie folgende Formel zeigt:

$$\text{pH} = -\log c_{(\text{H}^+)}$$

Die Umstellung der Formel kann zur Ermittlung der Wasserstoffionenkonzentration genutzt werden, indem der pH-Wert den Exponenten der Zahl 10 bildete und die Wasserstoffkonzentration in mol/l ermittelt wird:

$$c_{(H^+)} = 10^{pH} \text{ in } \text{mmol} \cdot \text{ml}^{-1}.$$

Die Fläche im pH-Zeit-Diagramm, die von der Kurve und einer Parallelen zur Abszisse bei pH-Wert 6 gebildet wird, steht dabei für die Protonenmenge, der ab einer bestimmten Größe (40  $\mu\text{mol/l}$ ) ein erosives Potential zugeschrieben wird (Abb. 15).

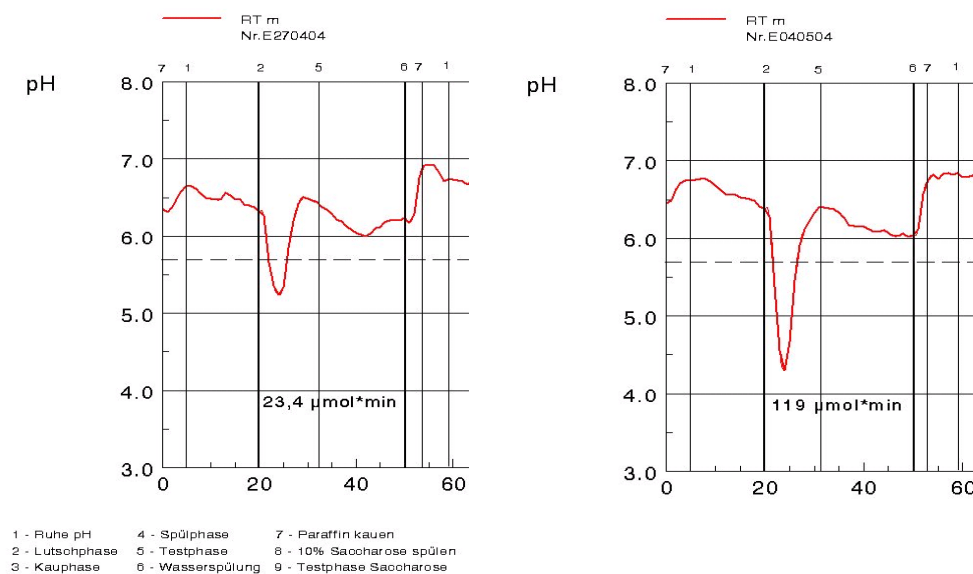


Abb. 15: Telemetrisch erfasste pH-Verläufe *in situ* nach Stößer (2006); während Verzehr unterschiedlich saurer Medien

In weiterer Folge dieser Arbeit wird diese Art des Mess- und Auswertesystems als Telemetrie bzw. telemetrische Untersuchung bezeichnet.

#### 4.2.3.5. Rückblick telemetrischer Messungen

Im Rahmen der Auswertung wurden telemetrische Messungen kommerzieller Genussmittel zur Erlangung der Prädikates „zahnfreundlich“ der betreuenden Abteilung ab 1993 gesichtet und jene in die Auswertung einbezogen, die ausschließlich Zitronensäure bekannter Konzentration als Säuerungsmittel enthielten. Die Anzahl der betreffenden Untersuchungen betrug  $n = 50$ . Die untersuchten sauren Genussmittel wurden in drei Gruppen hinsichtlich ihres Zitronensäuregehalts eingeteilt (bis 1,0 %, 1,0 bis 1,7 %, 2,0 % und mehr).

#### 4.2.4. Mikromorphologische Untersuchungen

##### 4.2.4.1. Oberflächenmikrohärte nach Vickers

Bei der Mikrohärtemessung nach Vickers bildet eine Pyramide mit quadratischer Grundfläche den Eindringkörper. Der Flächenwinkel, gemessen zwischen zwei gegenüberliegenden Pyramidenseiten, beträgt  $44^\circ$ . Im Verlauf des Messprozesses wird dabei der Eindringkörper mit einer definierten Kraft  $P$  über eine definierte Zeit  $t$  senkrecht zur untersuchenden Fläche aufgesetzt, die Seitenkanten der entstandenen Impression dienen zur Berechnung der Oberflächenhärte (Abb. 16).

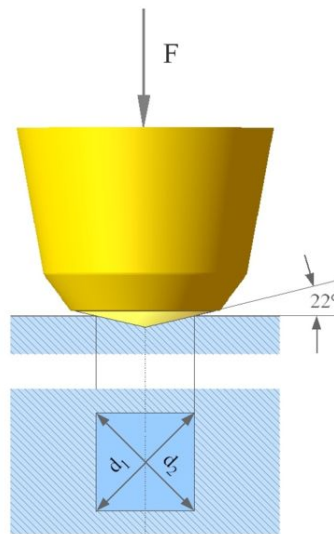


Abb. 16: Prinzip der Ermittlung der Oberflächenhärte nach Vickers (Quelle Internet)

Als messbare Größen bleiben bei senkrechter Betrachtung die beiden Diagonalen  $d_1$  und  $d_2$  der Impression (Abb. 17).

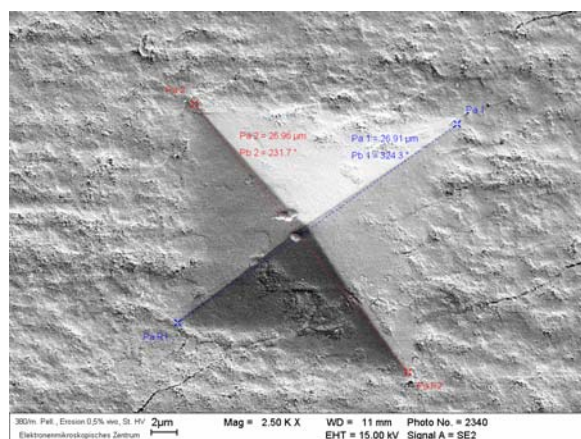


Abb. 17: REM-Aufnahme einer Impression zur Bestimmung der Mikrohärte

Aus diesen beiden Strecken und der gegebenen Größe von  $22^\circ$  zwischen Pyramidenfläche und dem Lot der Pyramidenspitze zur Grundfläche ist die Eindringtiefe des Eindringkörpers sicher zu ermitteln. Eine Mittelung der beiden Diagonalen stellt dabei eine Näherung an den Idealfall dar, bei dem die absolut symmetrische Pyramidenspitze einen ebenfalls absolut symmetrischen Eindruck auf einer ideal ebenen und waagerechten Fläche hinterlässt.

Die Mikrohärté nach Vickers HV stellt den Quotienten aus dem Verhältnis der Belastung P zur Oberfläche M des entstandenen bleibenden Eindruckes der Diamantenpyramide dar.

P – Prüfmasse in kg

M – Oberfläche des Eindruckes in  $\text{mm}^2$

$$M = d^2 (2 \cdot \cos 22^\circ)^{-1} [\text{mm}^2]$$

Die Vickershärté berechnet sich daraus wie folgt:

$$\begin{aligned} HV &= P \cdot M^{-1} \\ HV &= P \cdot M^{-1} = P \cdot d^2 (2 \cdot \cos 22^\circ)^{-1}. \end{aligned}$$

Um verlässliche Messwerte zu ermitteln, sind verschiedene Voraussetzungen zu erfüllen:

- die zu prüfende Fläche ist senkrecht zum Eindringkörper zu positionieren,
- die Oberfläche muss auch mikroskopisch „glatt“ sein und
- der Prüfkörper ist auf einer stabilen Unterlage parallel zur Messfläche sicher zu befestigen.

#### **4.2.4.2. Messung der Mikrohärté des Zahnschmelzes**

In vorliegender Arbeit kam folgende apparative Kombination zur Anwendung. Ein Auflichtmikroskop (Jenavert, Carl Zeiss, Jena), welches mit einer Härteprüfeinrichtung (mph 160, Carl Zeiss, Jena) ausgestattet war, lieferte die mechanisch-optische Grundlage für die Prüfung. Dabei war das Objektiv horizontal gegen die Impressionsvorrichtung austauschbar.

Angeschlossen an das Mikroskop waren eine Videokamera (CF 15/2, Kappa Messtechnik GmbH, Gleichen), ein Monitor (KX -14 CP 1 Trinitron, Sony, Japan) und ein Auswertungscomputer (MFK II, Kappa Messtechnik GmbH, Gleichen; Abb. 18).



Abb. 18: Mikrohärtemessplatz inkl. Monitor, Mikroskop und Auswerteeinheit (von links nach rechts)

Zur regelmäßigen Kalibrierung diente eine Messskala mit 1/1000 mm–Teilung.

Vor jeder Mikrohärtemessung erfolgte stets 10 Sekunden lang eine sanfte Reinigung der Schmelzoberfläche mit Wasser zur Analyse (Titripac, Merck Darmstadt) und einer weichen Zahnbürste.

Mit Hilfe eines Planparallelometers wurden die einzelnen Prüfkörper per additionsvernetzendem Silikon (Provil P<sup>®</sup>, Bayer Dental, Leverkusen) auf Objektträgern fixiert (Abb. 19).

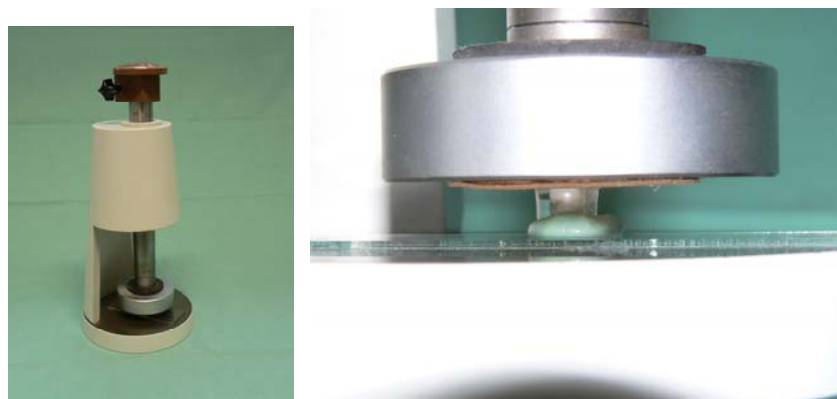


Abb. 19: Planparallelometer; links in toto, rechts vergrößerte Darstellung der Prüfkörperbefestigung auf einem Objektträger

Allen Härtemessungen wurden jeweils sechs Impressionen der Vickerspyramide auf einem Prüfkörper zu Grunde gelegt (Abb. 20). Die Masse, mit der die Diamantpyramide auf die Schmelzoberfläche drückte, betrug 80 g und die Expositionszeit 10 s (Messung mittels Stoppuhr). Im Detail wurden dabei die Impressionsdiagonalen auf dem Bildschirm abgebildet und manuell vermessen, der angeschlossene Computer ermittelt dabei sofort die entsprechende Mikrohärt.

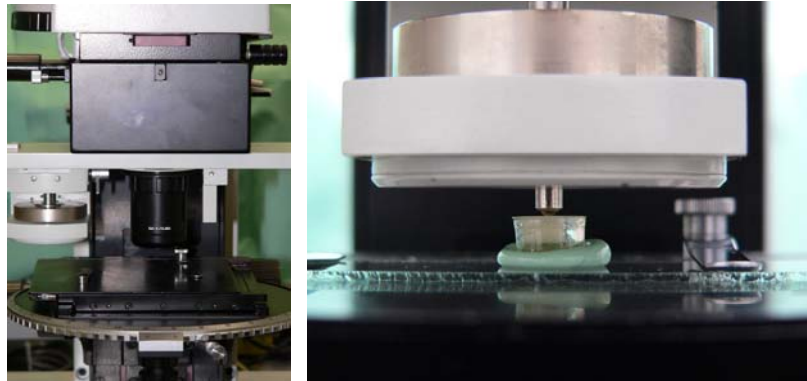


Abb. 20: Härteprüfeinrichtung am Mikroskop; links in toto, rechts vergrößerte Darstellung des Impressionsvorganges

Der Mittelwert der sechs Messwerte diente jeweils vor (Ausgangshärte) und nach (Endhärte) den Erosionsvorgängen der Bestimmung der Oberflächenhärte bzw. des erosionsbedingten Härteverlustes des jeweiligen Prüfkörpers. Die Differenz der Mikrohärt (Mikrohärteverlust) stellte dabei eine quantifizierbare Größe der Oberflächenerweichung dar, die als Erosion betrachtet wurde.

#### **4.2.4.3. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen**

Zur mikromorphologischen Bewertung der Oberflächenstruktur wurden jeweils randomisiert aus jeder Untersuchungsgruppe drei Proben einer rasterelektronenmikroskopischen Betrachtung/Auswertung zugeführt. Dabei wurde ein Rasterelektronenmikroskop SEM-515 (Philips, Niederlande) genutzt (Abb. 21).





Abb. 21: Rasterelektronenmikroskop SEM-515 (Philips, Niederlande)

Eine Vorbereitung der Proben durch Goldbedampfung unter Vakuum und Fixation auf entsprechenden Objektträgern (Spezialkleber „Leit-C“, Neubauer Chemikalien, Münster) ging der Untersuchung voraus. Um Details der Oberfläche deutlicher wahrnehmen zu können, wurde die Probenoberfläche zum Elektronenstrahl geneigt. Auf jeder Probenoberfläche wurden dabei je zwei repräsentative Stellen ausgewählt und stets mit folgenden Vergrößerungen begutachtet:

1.000fach, 5.000fach, 10.000fach, 20.000fach.

Einzelne Übersichtsaufnahmen wurden mit einer 250fachen Vergrößerung vorgenommen. Mit Hilfe des Computerprogramms für Bildanalyse „Digital Image Processing System“ war es möglich, mikromorphologische Befunde fotografisch zu dokumentieren, zu digitalisieren und zu speichern (Abb. 22).

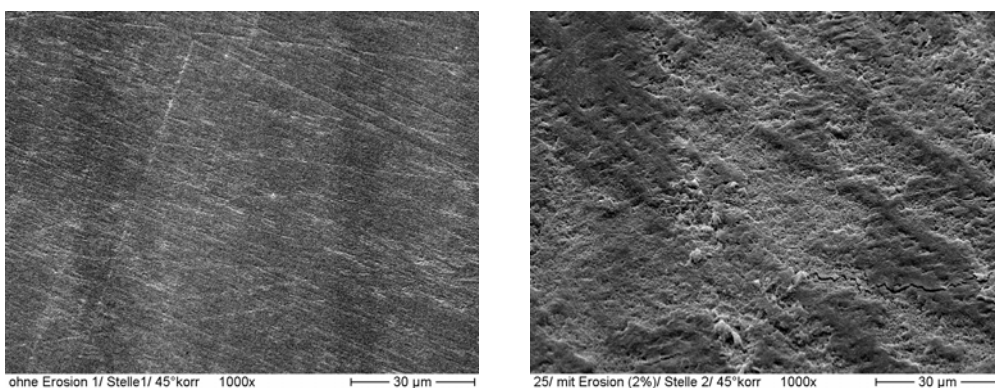


Abb. 22: REM-Aufnahmen von Prüfkörpern; links ohne Erosion, rechts nach Erosion durch Lösung eines 2,0%igen Candies, jeweils 1.000fach vergrößert



### 4.3. Vorversuche

#### 4.3.1. Massenbestimmung der Candies

Für die Hauptuntersuchungen der Arbeit war es unerlässlich, die Gewichte der Candies zu bestimmen, um an Hand der vom Hersteller angegebenen Zitronensäurekonzentrationen die Menge an Zitronensäure und damit Säurekonzentrationen in Lösungen zu ermitteln.

Deshalb wurden jeweils zehn randomisiert gewählte Proben jeder Konzentrationsstufe mit einer Feinwaage MC 1 KB BA 100 (Satorius AG, Göttingen) gewogen und Mittelwerte gebildet (Tab. 2).

Tab. 2: Candymassen der verschiedenen Zitronensäurekonzentrationen (n je 10)

| Zitronensäuregehalt der Candies in % | 0,50 | 1,00 | 1,25 | 1,50 | 2,00 | 2,50 | Gesamt |
|--------------------------------------|------|------|------|------|------|------|--------|
| Mittelwert Candymasse in g           | 2,79 | 2,78 | 2,88 | 2,83 | 2,73 | 2,83 | 2,80   |
| SD ±                                 | 0,23 | 0,14 | 0,12 | 0,14 | 0,09 | 0,21 | 0,16   |

Dabei wurde festgestellt, dass für die einzelnen Konzentrationsgruppen die Gruppenmittelwerte zwischen 2,73 g und 2,88 g differierten. Für alle Candies ergab sich ein Mittelwert von **2,80 g** (Standardabweichung 0,16 g), der in weiterer Folge als rechnerische Grundlage für Konzentrationsermittlungen diente.

#### 4.3.2. Speichelfließrate während des Candyverzehr

Während der Vorversuche wurden Candies von 0,5 und 2,0 % Zitronensäuregehalt durch 5 Probanden verzehrt. Die sezernierte Speichelmenge wurde bis zum vollständigen Auflösen des Bonbons gesammelt und mit einer Feinwaage MC 1 Typ KB BA 100 (Satorius AG, Göttingen) gewogen. Unter Annahme der Dichte von  $1\text{g/cm}^3$  für Speichel konnten per Dreifachuntersuchung Mittelwerte der Speichelmenge für jeden Probanden errechnet werden (Tab. 3).

Tab. 3: Candy-induzierte Speichelmengen während des Lutschens von 0,5 und 2,0%igen Zitronensäurecandies im Rahmen

| Proband                           | M. D. |       | P. K. |       | C. H. |       | T. B. |       | M. M. |       |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Zitronensäuregehalt im Candy      | 0,5%  | 2,0%  | 0,5%  | 2,0%  | 0,5%  | 2,0%  | 0,5%  | 2,0%  | 0,5%  | 2,0%  |
| Mittelwert<br>Speichelmenge in ml | 19,95 | 18,97 | 8,75  | 13,51 | 15,73 | 12,21 | 15,43 | 14,72 | 21,30 | 18,80 |
| SD ±                              | 1,62  | 0,72  | 0,96  | 1,15  | 2,23  | 1,11  | 2,57  | 1,27  | 1,25  | 1,24  |

Dabei variierten die sezernierten Speichelmengen in der Verzehrszeit bis zum vollständigen Lösen der Candies zwischen 8,75 ml und 21,30 ml. Der Mittelwert über alle gemessenen Speichelmengen lag bei 15,3 ml (SD 3,7 ml). Schlussfolgernd aus diesem Ergebnis wurden bei den *In-vitro*-Versuchen 15 ml H<sub>2</sub>O als Lösungsmittelmenge für ein Candy verwendet.

#### 4.3.3. Lutschzeiten verschiedener Dropse

Während des Verzehrs wurden ebenfalls die Zeiten bis zum vollständigen Lösen der Candies erfasst. Aus drei Messwerten pro Zitronensäurekonzentration und Proband wurden Mittelwerte gebildet (Tab. 4).

Tab. 4: Zeit bis zum vollständigen Auflösen der Candies bei verschiedenen Probanden

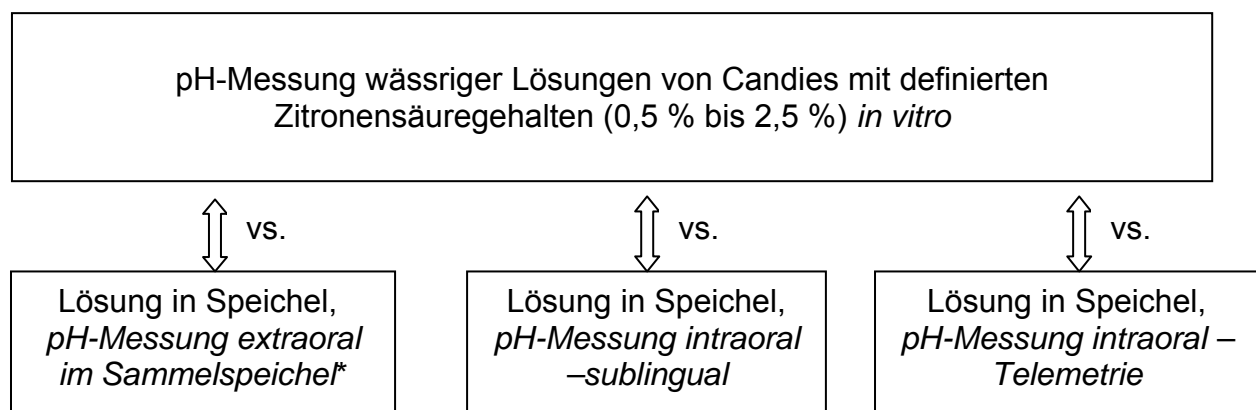
| Proband                      | M. D. |     | P. K. |     | T. B. |     | C. H. |     | M. M. |     |
|------------------------------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| Zitronensäuregehalt im Candy | 0,5   | 2   | 0,5   | 2   | 0,5   | 2   | 0,5   | 2   | 0,5   | 2   |
| MW Verzehrszeit in s         | 366   | 325 | 334   | 253 | 309   | 295 | 261   | 212 | 389   | 322 |
| SD ±                         | 16    | 4   | 19    | 21  | 26    | 10  | 22    | 18  | 34    | 38  |

Die Zeit bis zum vollständigen Auflösen variierte zwischen 212 und 389 s, der Mittelwert der Verzehrszeit betrug rund 307 s (= 5 min:07 s) mit einer Standardabweichung von 51 s. Aufgrund dieses Ergebnisses wurden für die *In-vitro*-Untersuchungen an den Zahnschmelzproben Expositionszeiten von 5 min gewählt.

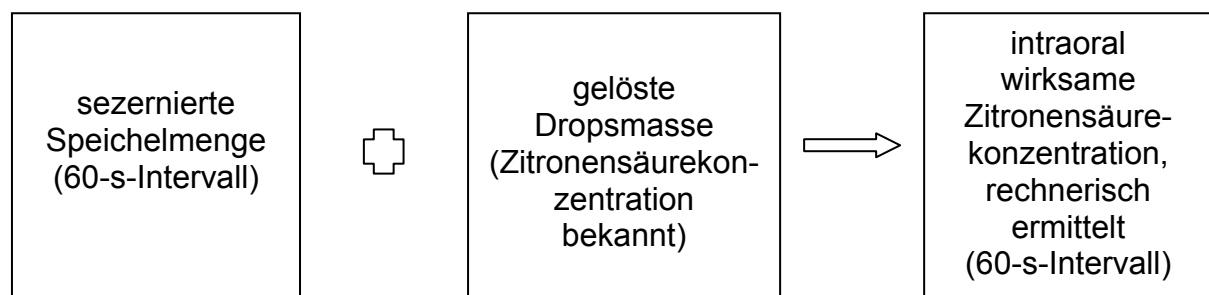
#### 4.4. Studiendesign und Versuchsdurchführung

##### 4.4.1. pH-Werte in Speichel- und wässrigen Lösungen sowie Speichelfließraten während des Candyverzehrs

Der erste Teil der Untersuchungen sollte Anhaltspunkte geben, inwiefern der pH-Wert einer wässrigen bzw. Speichellösung die Zitronensäurekonzentration der Candies reflektierte, um deren Erosionspotentiale einzuschätzen. Darum wurden pH-Werte während des Lösens der Candies in Wasser bzw. Speichel zeitabhängig erfasst und anschließend grafisch dargestellt.

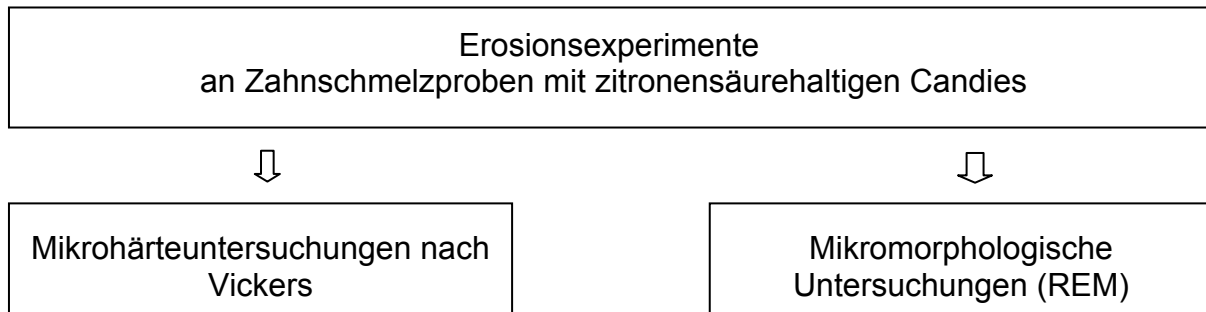


Im Rahmen der extraoralen pH-Messungen im Sammelspeichel (\*) wurden sezernierte Speichelmengen und Restdropsmassen in 60-s-Intervallen gemessen. Diese Parameter dienten zur rechnerischen Ermittlung der jeweils intraoral gelösten Menge Zitronensäure während des Bonbonverzehrs.



#### 4.4.2. Ablauf der Erosionsversuche an Schmelzproben (Ermittlung des Härteverlustes)

Im zweiten Versuchsabschnitt wurden Candies mit ausgewählten Zitronensäurekonzentrationen für Erosionsversuche an bovinen Zahnschmelzproben genutzt, um mikromorphologische Untersuchungen der Schmelzoberfläche durchzuführen (Mikrohärteuntersuchungen und mikroskopische Untersuchungen).



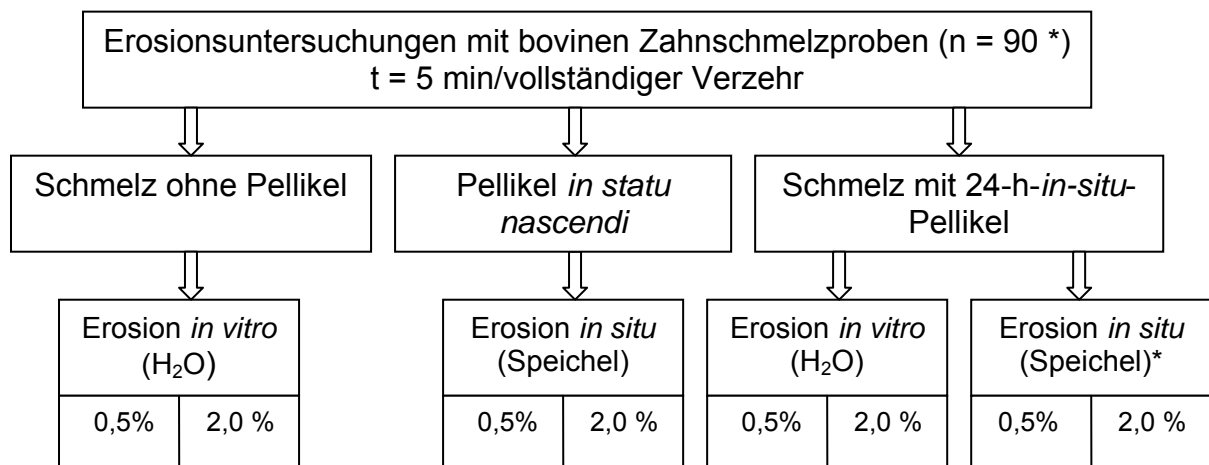
Die Erosionsexperimente ließen sich durch Versuchsmodus (= Erosionsumgebung), Pellikelstatus und Zitronensäurekonzentration der verwendeten Bonbons gliedern (Tab. 5).

Tab. 5: Variable Faktoren der Erosionsexperimente

| Versuchsmodus   | Pellikelstatus                    | Zitronensäurekonz. im Bonbon |
|-----------------|-----------------------------------|------------------------------|
| <i>in vitro</i> | ohne Pellikel                     | 0,5 % + 2,0 %                |
| <i>in situ</i>  | Pellikel <i>in statu nascendi</i> | 0,5 % + 2,0 %                |
|                 | 24-h- <i>in situ</i> -Pellikel    | 0,5 % + 2,0 %                |

Durch die Kombination der einzelnen drei Faktoren wurden acht Versuchsgsgruppen gebildet, die nach folgendem Ablaufschema untersucht wurden (Abb. 23). Der Stichprobenumfang jeder einzelnen Gruppe betrug  $n = 10$ .

Abb. 23: Schema der Erosionsexperimente an den Schmelzoberflächen



\* bei 2,0 % zitronensäurehaltigen Candies wurde diese Gruppe nochmals in statischen und dynamischen Verzehr geteilt; statisch = Bonbon wechselseitig neben Schmelzprobe / dynamisch = Bonbon alloral bewegt während des Verzehrs; aus Gründen der Vergleichbarkeit hinsichtlich Expositionszeit wurden die statischen Versuche nach 5 min abgebrochen

#### 4.4.3. Durchführung der Experimente

Der Versuchsmodus ließ sich grundsätzlich in *in vitro* und *in situ* trennen.

*In vitro* bedeutete, dass die Versuche außerhalb der menschlichen Mundhöhle in Reaktionsgefäßen (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen) stattfanden. Als erosives Medium dienten wässrige Lösungen der zitronensäurehaltigen Candies (15 ml Wasser je Bonbon). In den Reaktionsgefäßen wurden die Prüfkörper mit jeweils 5 ml der angefertigten Lösungen 5 Minuten lang bei 37 °C (Brutschrank VT 5042 EK N2, Heraeus Instruments GmbH, Hanau) überschichtet und somit ausreichend und vollständig bedeckt.

Alle *In-situ*-Versuche fanden in der menschlichen Mundhöhle statt. Dabei kam die bereits erwähnte abnehmbare Apparatur, die auch zur Ausbildung der 24-h-*in-situ*-Pellikel diente, zur Anwendung. Das Lösungsmittel war Speichel, das Versuchsende war grundsätzlich mit dem vollständigen Auflösen der Candies während des Konsums erreicht.

Die Schmelzoberfläche war nicht oder mit einer 24-h-*in-situ*-Pellikel bei Versuchsstart bedeckt; das Inkorporieren einer unbedeckten Schmelzoberfläche *in situ* führte zwangsläufig und zeitgleich zur Ausbildung einer Pellikel *in statu nascendi*.

Nach der Betrachtung und Auswertung der Resultate von Vor- und Hilfsversuchen wurden Candies mit 0,5 und 2,0 % Zitronensäurekonzentration verwendet.

#### **4.5. Statistische Auswertung**

Die Ergebnisse der Mikrohärteuntersuchungen wurden einer statistischen Analyse durch das Programm SPSS 15.0 für Windows durchgeführt. Dabei wurden alle Ergebnisse einer univariaten Varianzanalyse zugeführt, einzelne Gruppen wurden untereinander mittels T-Test auf Signifikanz geprüft ( $p < 0,05$ ). Die grafische Darstellung erfolgte anschließend per boxplots and whiskers.

## 5. Ergebnisse

### 5.1. pH-Werte der Candylösungen in Wasser bzw. Speichel

#### 5.1.1. pH-Werte und Säurekonzentrationen von wässrigen Candylösungen

Nach dem vollständigen Auflösen von Candies mit Zitronensäurekonzentrationen von 0,5 bis 2,5 % wurden pH-Werte gemessen und registriert.

Im Wasser bewirkte die ansteigende Säurekonzentration (0,5 bis 2,5 %) bei einem Gramm Candy ebenso eine zunehmende und messbare Erhöhung der Säurekonzentration in der Lösung (Ausdruck durch pH-Erniedrigung) wie auch beim Auflösen eines ganzen Candys in 15 ml H<sub>2</sub>O (0,5 bis 2,5 % Zitronensäure; MW 2,8 g). Der pH-Wert schwankte dabei zwischen 3,07 bei einem Gramm Candy mit 0,5 % Zitronensäure je Bonbon und 2,27 bei einem ganzen Bonbon mit 2,5 % Zitronensäure. Die pH-Differenz zwischen einem Gramm Candy und durchschnittlich 2,8 Gramm Candy (ganzes Bonbon) betrug bis zu 0,52 pH-Einheiten (Abb. 24, Tab. 13 Anhang).

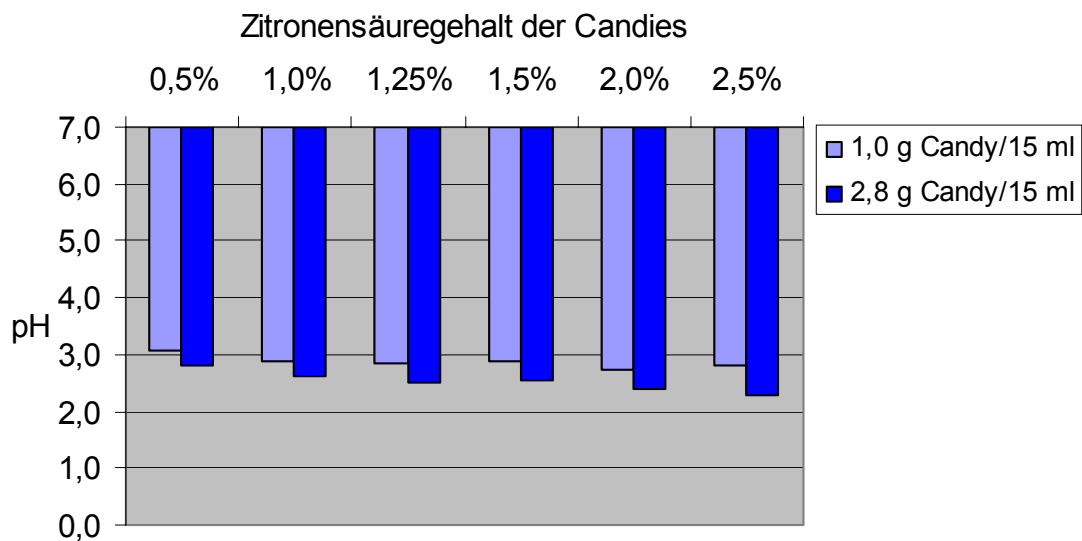


Abb. 24: pH-Werte wässriger Candylösungen bei verschiedenen Zitronensäurekonzentrationen

Aus dem Gewicht der Bonbons, dem definierten Zitronensäuregehalt und der Lösungsmittelmenge wurden die Zitronensäurekonzentrationen (Tab. 6) in den wässrigen Lösungen berechnet (siehe Kapitel 4.2.1.3.).

Tabelle 6: Zitronensäurekonzentrationen der wässrigen Lösungen aus Bonbons mit definierten Zitronensäurekonzentrationen

| Zitronensäuregehalt je Candy                                  | 0,5 % | 1,0 % | 1,25 % | 1,5 % | 2,0 % | 2,5 % |
|---|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| wirksame Zitronensäurekonz. bei 15 ml H <sub>2</sub> O/Bonbon | 0,08  | 0,16  | 0,20   | 0,24  | 0,32  | 0,40  |

### 5.1.2. Extraoral ermittelte Speichel-pH-Werte während des Candyverzehrs

Beim Lutschen der Bonbons (0,5 bis 2,5 % Zitronensäure) und Registrierung des pH-Wertes extraoral im gesammelten Speichel (siehe Kapitel 4.2.2.1.) wurde bei allen Säurekonzentrationen außer bei 0,5 % der niedrigste pH-Wert nach der zweiten Verzehrrminute festgestellt. Der pH-Abfall reichte bei der stärksten Säurestufe bis pH 3,83 und stieg bei allen verwendeten Säurestärken nach dem völligen Auflösen zum Zeitpunkt der sechsten Minute wieder an. Stimulationsbedingt stiegen die pH-Werte nach dem Auflösen über den Ausgangswert des Ruhespeichel-pH-Wertes hinaus an, bis 20 Minuten nach Verzehrbeginn der Ausgangswert annähernd wieder erreicht wurde (Abb. 25; Tab. 14 Anhang).

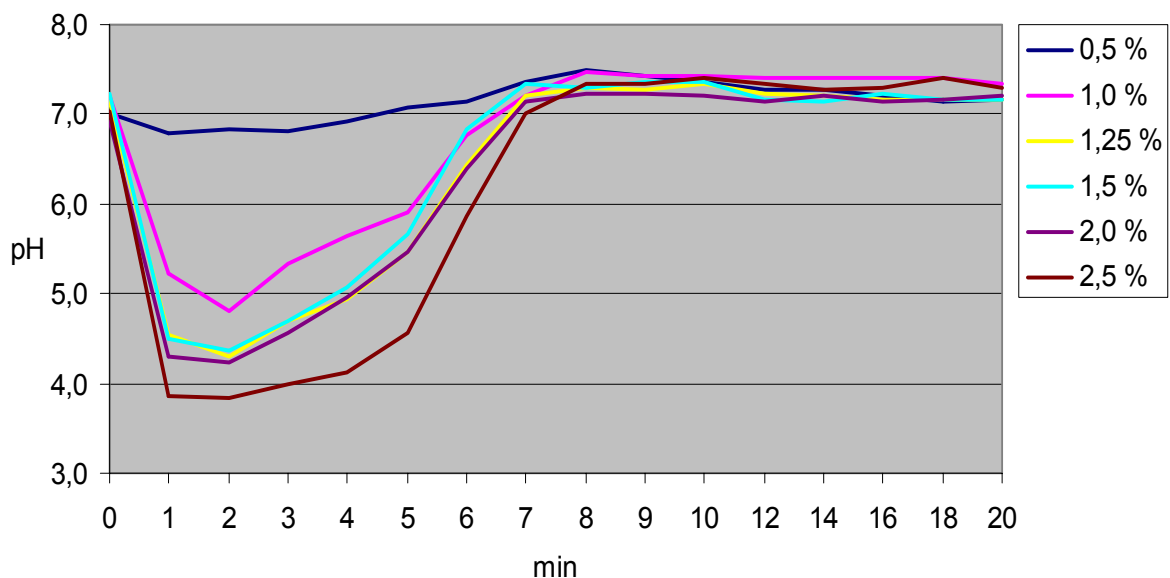


Abb. 25: pH-Mittelwerte von Candy-Speichel-Lösungen (in 60-s-Intervallen gesammelt und extraoral gemessen)



### 5.1.3. Speichelmengen und wirksame Zitronensäurekonzentrationen

Während des Versuchsteils, in dem die Candies verzehrt und in 60-s-Intervallen extraoral im gesammelten Speichel der pH-Wert gemessen wurde, wurde parallel die sezernierte Speichelmenge ermittelt. Übereinstimmend mit den pH-Minima (Kapitel 5.1.2.1.) wurden Sekretionsmaxima mit einer Verzögerung bis zu einer Minute registriert. Die Speichelmenge variierte zwischen 3,92 ml/min bei 0,5 % Zitronensäure/Bonbon bis 5,06 ml/min bei 2,5 % Zitronensäure/Bonbon (Abb. 26, Tab. 16 Anhang).

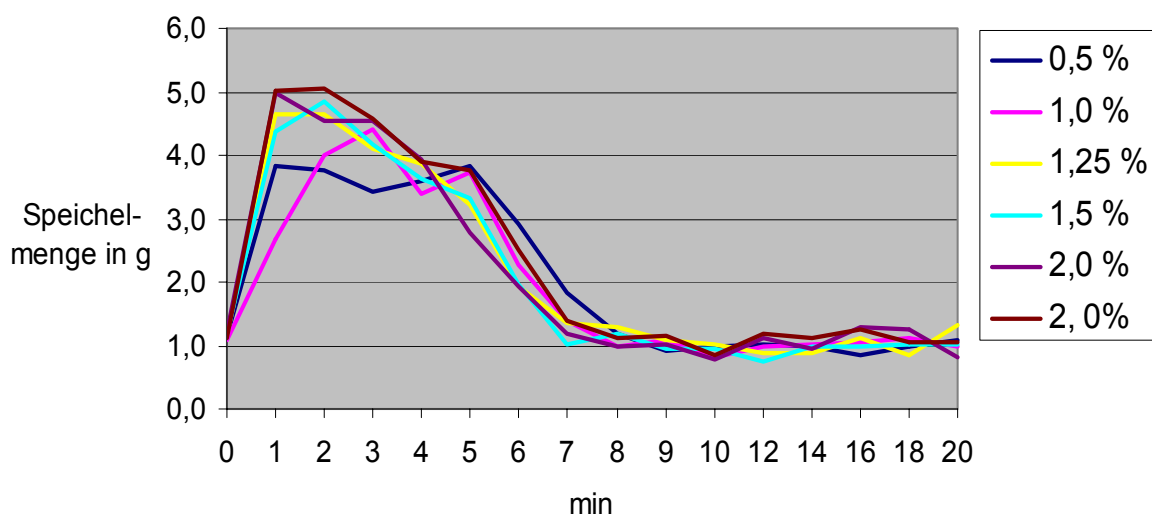


Abb. 26: Speichelmengen während und nach Verzehr in 60-s-Intervallen gesammelt

### 5.1.4. Wirksame Zitronensäurekonzentrationen im Speichel

Rechnerisch wurden aus sezernierten Speichelmengen und aufgelösten Dropsmengen wirksame Zitronensäurekonzentrationen für jede Verzehrrminute ermittelt. Die berechneten Konzentrationen waren direkt von den Ausgangskonzentrationen der Zitronensäure in den Bonbons abhängig. Es ergaben sich Konzentrationen von 0,105 % (0,5 % Zitronensäure/Drops) bis 0,523 % (2,5 % Zitronensäure/Drops) für das Ende der ersten Verzehrrminute. Im weiteren Verlauf fielen die errechneten Konzentrationen spätestens nach der vierten Minute für alle Ausgangssäurestärken unter 0,1 % und liefen bis zum vollständigen Auflösen in der fünften bzw. sechsten Minute clearanceabhängig gegen Null (Tab. 7, Abb. 27).

Tabelle 7: Zitronensäurekonzentrationen (%) im Speichel während des Bonbonverzehrs (n = 3/pro Konzentration)

| Verzehrzeit in min          | 1  | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |
|-----------------------------|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| Zitronensäure im Bonbon (%) | Zitronensäurekonzentration im Speichel (%) |       |       |       |       |       |
| 0,5                         | 0,105                                      | 0,092 | 0,083 | 0,066 | 0,042 | 0,008 |
| 1,0                         | 0,207                                      | 0,196 | 0,125 | 0,106 | 0,014 | 0,000 |
| 1,25                        | 0,272                                      | 0,196 | 0,177 | 0,113 | 0,054 | 0,007 |
| 1,5                         | 0,357                                      | 0,252 | 0,194 | 0,152 | 0,036 | 0,000 |
| 2,0                         | 0,418                                      | 0,327 | 0,259 | 0,187 | 0,034 | 0,000 |
| 2,5                         | 0,523                                      | 0,430 | 0,372 | 0,244 | 0,066 | 0,020 |

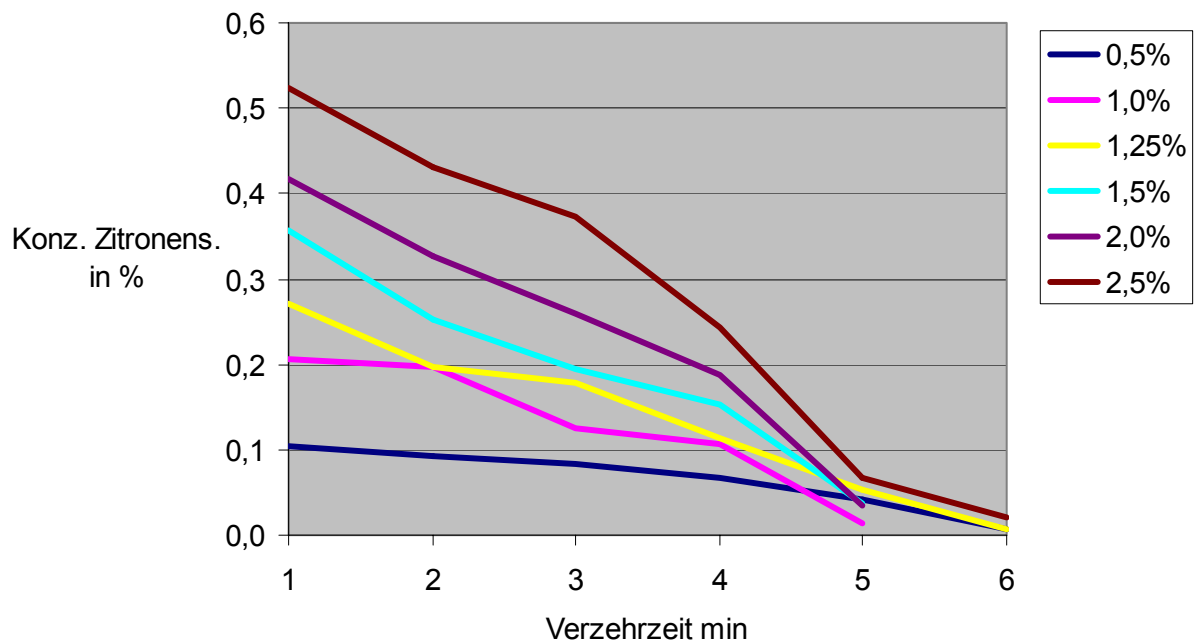


Abb. 27: Zitronensäurekonzentrationen im Speichel (%) in 60-s-Intervallen für Bonbons mit Zitronensäure von 0,5 bis 2,5 %

### 5.1.5. Intraoral ermittelte Speichel-pH-Werte während des Candyverzehr

Wenn der pH-Wert intraoral im Mundboden parallel zum Lutschvorgang mit einer Einstabmesskette beobachtet wurde, konnten keine wesentlichen pH-Auslenkungen in den sauren Bereich festgestellt werden, die Abhängigkeit zur Säurestärke der verwendeten Bonbons war nicht gegeben. Nach der sechsten Minute und damit dem vollständigen Lösen der Bonbons waren pH-Auslenkungen über pH 7 festzustellen. Eine Rückkehr zum Ausgangs-pH-Wert vor dem Bonbonverzehr dauerte ca. 20 Minuten (Abb. 28, Tab. 15 Anhang).

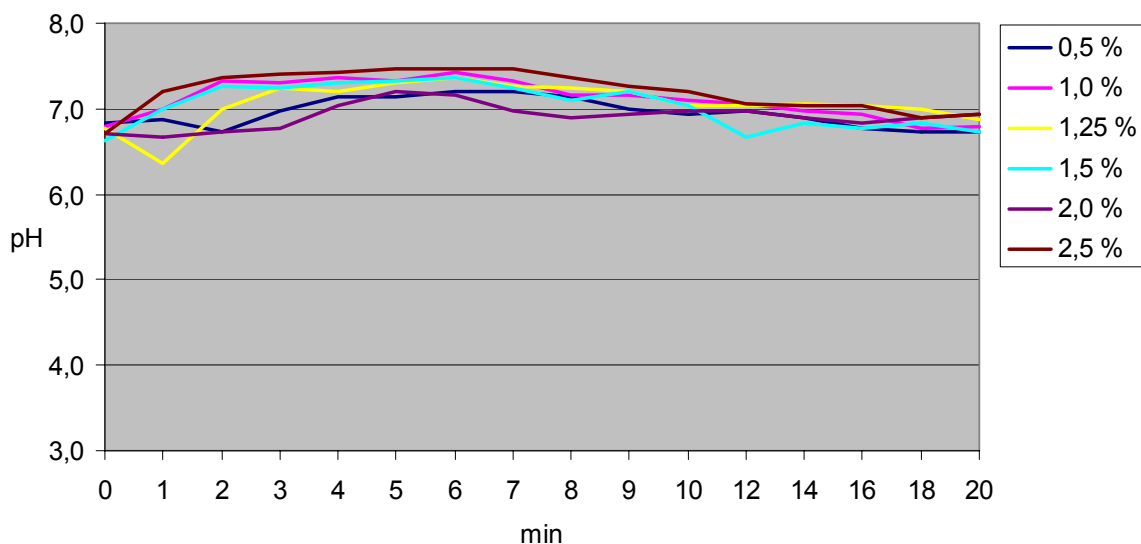


Abb. 28: Intraoral gemessene pH-Werte während des Verzehr der Bonbons mit 0,5 bis 2,5 % Zitronensäure

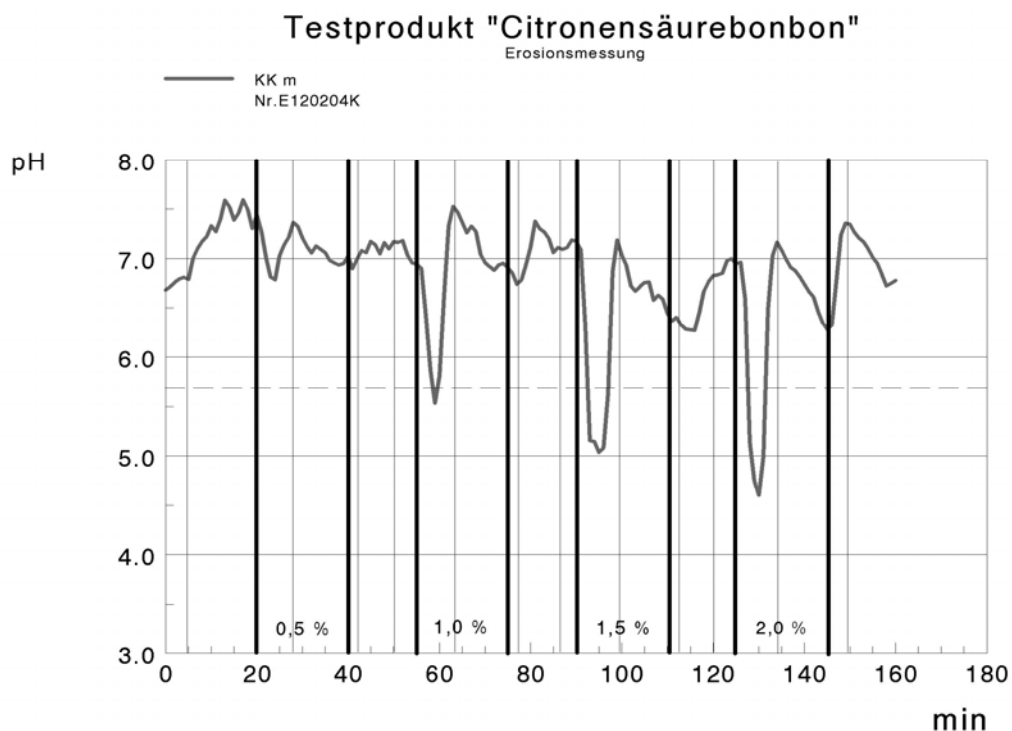
### 5.1.6. Telemetrisch ermittelte pH-Werte und Säuremengen während des Candyverzehr

Die telemetrische Ermittlung des intraoralen pH-Wertes ergab eine eindeutige Konzentrationsabhängigkeit der pH-Absenkungen in den sauren Bereich. Die geringste Auslenkung konnte bei allen Probanden während des Genusses von Bonbons mit 0,5 % Zitronensäure beobachtet werden. Hier schwankte der niedrigste pH-Wert zwischen 6,7 und 5,2 nach vier bis sechs Minuten. Die niedrigsten pH-Werte waren mit 2,0 % Zitronensäure je Bonbon zu ermitteln, sie schwankten zwischen 4,6 und 4,8 nach fünf bis sieben Minuten.

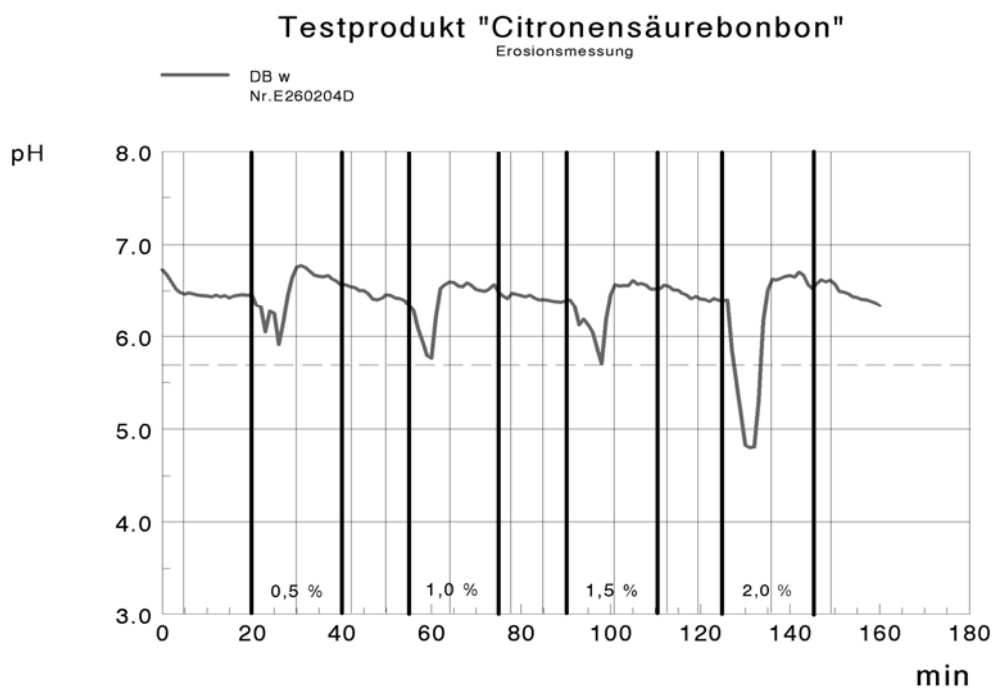
Die ermittelte Säuremenge während des gesamten Lutschvorgangs betrug 2 bis 23  $\mu\text{mol/l}$  in 15 Minuten für 0,5%ige Bonbons und 67 bis 75  $\mu\text{mol/l}$  in 15 Minuten für 2,0%ige Bonbons.

Auf eine Testung mit 2,5 % Zitronensäure wurde verzichtet.

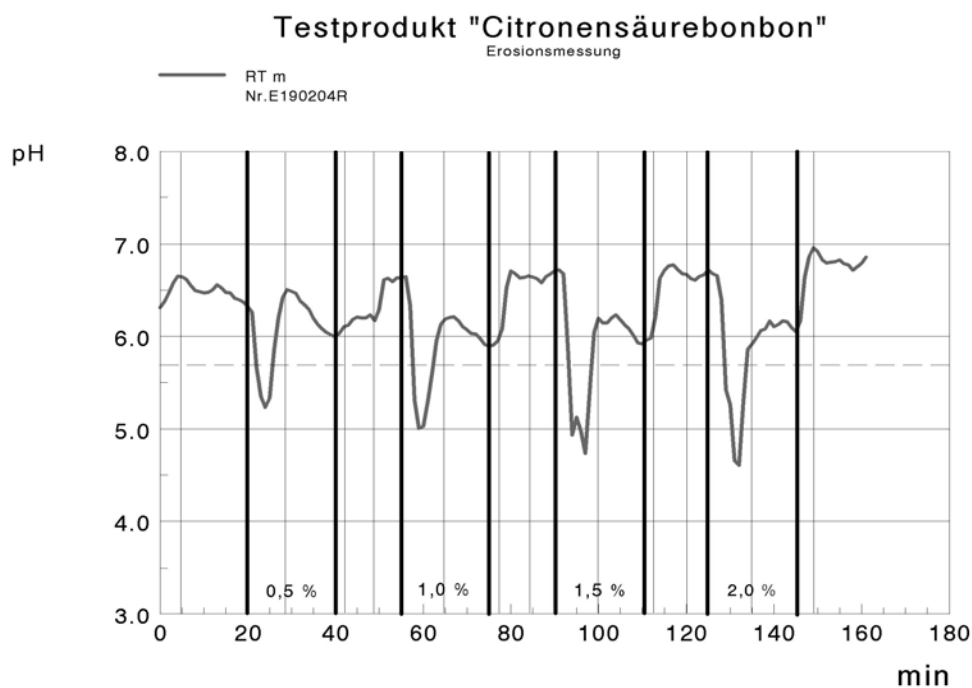
In Abbildung 29 sind die ermittelten pH-Verläufe je nach Säurestärke der Bonbons dargestellt, Tabelle 8 zeigt die ermittelten Säuremengen an drei zur Verfügung stehenden Probanden.



a



b



c

Abb. 29: Telemetrisch erfasste pH-Verläufe während und nach Bonbonverzehr (0,5–2,0 % Zitronensäurekonzentration) an den Probanden K.K. (29 a), D.B. (29 b) und R.T. (29 c)

Tabelle 8: Säuremenge während des telemetrisch erfassten Verzehrs verschieden konzentrierter Zitronensäurebonbons an drei Probanden

| Protonenkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ in 15 Minuten |     |     |     |     |
|--|-----|-----|-----|-----|
| Zitronensäure im Candy in %                              | 0,5 | 1,0 | 1,5 | 2,0 |
| Proband  |     |     |     |     |
| K.K.   | 2   | 7   | 36  | 69  |
| D.B.   | 8   | 9   | 8   | 67  |
| R.T.   | 23  | 40  | 61  | 75  |

Die retrospektive Auswertung durchgeführter telemetrischer Erosionsmessungen der betreuenden Struktureinheit erforderte eine Zusammenfassung der Süßwaren in drei Säurekonzentrationsstufen.

Die Süßwaren mit bis zu 1,0 % Säuregehalt ( $n = 16$ ) hatten eine pH-Absenkung zwischen pH 4,4 bis 6,4 zur Folge. Süßwaren der Konzentrationsstufe bis 1,7 % Säure ( $n = 26$ ) bewirkten eine breitere und weiter ins Saure führende pH-Absenkung bis pH 3,8. Mit über 2,0 % Säure wurden deutlich weniger Produkte getestet ( $n = 8$ ); diese führten bis zu einem pH-Minimum von 5,4 (Tab. 9 und Abb. 30).

Tabelle 9: Maximale pH-Absenkungen bei telemetrischen Erosionsuntersuchungen in drei Gruppen gegliederter Süßwaren mit < 1,0, 1,0–1,7 und > 2,0 % Zitronensäure

| Zitronensäurekonz. der Testprodukte   | bis 1,0 % | 1,0 bis 1,7 % | über 2,0 % |
|---------------------------------------|-----------|---------------|------------|
| Anzahl untersuchter Produkte<br>$n =$ | 16        | 26            | 8          |
| Streubreite pH <sub>min</sub>         | 4,3 - 6,4 | 3,8 - 6,4     | 4,9 - 6,7  |
| Mittelwert pH <sub>min</sub>          | 5,2       | 5,0           | 5,4        |

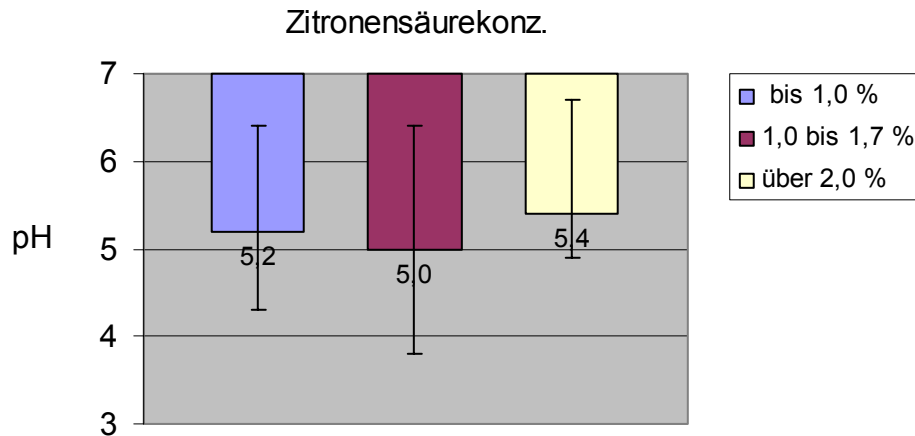


Abb. 30: Streubreite der telemetrischen pH-Minima bei Erosionsmessungen in drei nach ihrem Zitronensäuregehalt gegliederten Gruppen

## 5.2. Mikromorphologische Untersuchungen

### 5.2.1. Mikrohärteuntersuchungen

Aufgrund der Ergebnisse der telemetrischen Messungen wurden jeweils mit 0,5 und 2,0 % zitronensäurehaltigen Candies Erosionsversuche *in vitro* und *in situ* bei differenter Pellikelbedeckung an bovinen Zahnschmelzoberflächen durchgeführt.

#### 5.2.1.1. Mikrohärteverluste im Versuchsmodus *in vitro*

*In vitro* schwankten die Mikrohärteverluste zwischen 4,9 HV bei einer pellikelbedeckten Oberfläche und Verwendung von 0,5 % Zitronensäure pro Bonbon bis 152,6 HV bei einer unbedeckten Schmelzoberfläche und Verwendung von 2,0 % Zitronensäure pro Bonbon (Tab. 10). Die Einwirkzeit der Bonbonlösung betrug fünf Minuten.

Tabelle 10: Mikrohärteverluste (HV) an Schmelzoberflächen *in vitro* bei Verwendung unterschiedlicher Zitronensäurekonzentrationen ohne und mit Pellikel (n = 10)

| Erosionsmodus      |           | <i>in vitro</i><br>ohne Pellikel |   |      | <i>in vitro</i><br>mit 24-h- <i>in-situ</i> -Pellikel |   |      |
|--------------------|-----------|----------------------------------|---|------|---|---|------|
| Zitronensäure in % |           | MW (HV) ± SD                     |   |      | MW (HV) ± SD  |   |      |
| im Candy           | in Lösung |                                  |   |      |   |   |      |
| 0,5                | 0,08      | 59,1                             | ± | 8,3  | 4,9   | ± | 8,3  |
| 2,0                | 0,32      | 152,6                            | ± | 13,6 | 55,8  | ± | 14,2 |

Es zeigte sich eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit, vor allem unter Pellikelschutz. Hier imponierte bei Verwendung von 0,5 % zitronensäurehaltiger Dropse ein nahezu vernachlässigbarer Härteverlust von 4,9 HV gegenüber 55,8 HV bei Versuchen mit 2,0 % Zitronensäure pro Drops ( $p \leq 0,001$ ).

Der höchste Mikrohärteverlust war an Schmelzproben ohne Pellikel und bei Verwendung von 2,0 % Zitronensäuregehalt je Drops festzustellen (152,6 HV) (Abb. 31).

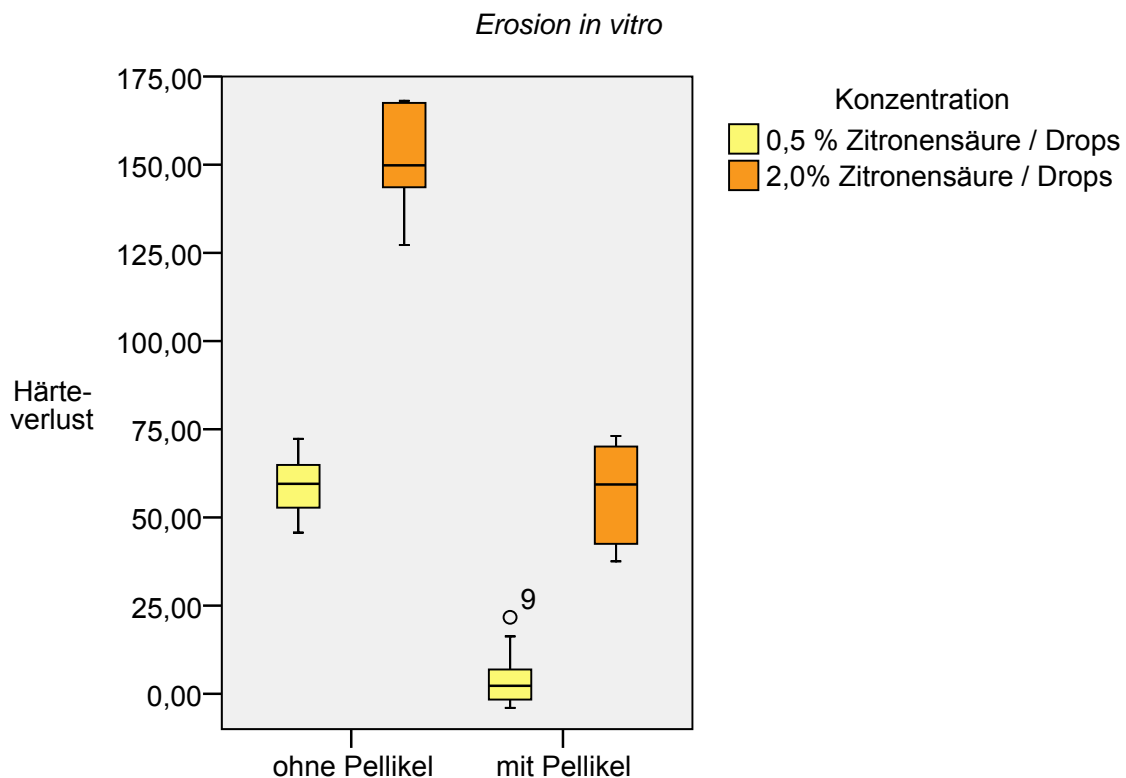


Abb. 31: Mikrohärteverluste bei 5-minütiger Erosion mit 0,5 und 2,0 % Zitronensäurebonbons sowie mit und ohne Pellikelschutz

#### 5.2.1.2. Mikrohärteverluste im Versuchsmodus *in situ*

Grundsätzlich war eine Konzentrationsabhängigkeit bei den *In-situ*-Experimenten festzustellen. Die Differenzen zwischen den Härteverlusten beim Verzehr von Dropsen mit 0,5 und 2,0 % Zitronensäure waren wiederum hoch signifikant verschieden ( $p \leq 0,001$ ).

Der Mikrohärteverlust beim Verzehr der schwächer konzentrierten Bonbons war weniger als ein Zehntel so groß wie der Mikrohärteverlust beim Verzehr von 2,0 %



zitronensäurehaltigen Bonbons (z. B. 6,4 HV zu 72,2 HV bzw. 5,4 HV zu 64,6 HV, je nach Pellikelqualität, Tab. 11).

Tabelle 11: Mikrohärteverluste (HV) an Schmelzoberflächen *in situ* bei Verwendung unterschiedlicher Zitronensäurekonzentrationen, Pellikelqualitäten und Verzehrweisen

| Erosionsmodus                                   |                | mit Pellikel<br><i>in statu nascaendi</i><br><br><i>dynamischer</i><br>Verzehr | mit 24-h- <i>in-situ</i> -<br>Pellikel<br><br><i>dynamischer</i><br>Verzehr | mit 24-h- <i>in-situ</i> -<br>Pellikel<br><br><i>statischer</i><br>Verzehr |
|---|----------------|--|---|--|
| Zitronensäure in %<br>im Candy      im Speichel |                | MW    ±    SD  | MW    ±    SD   | MW    ±    SD  |
| 0,5   | 0,105 - 0,008* | 6,4    ±    4,2  | 5,4    ±    11,0  | n. d.**  |
| 2,0   | 0,418 - 0,034* | 72,2    ±    6,2   | 64,6    ±    21,8   | 47,3    ±    13,3  |

\* - Konzentration abnehmend während des Verzehrs

\*\* - nicht durchgeführt

Der Unterschied zwischen Härteverlusten nach Experimenten mit Pellikel *in statu nascaendi* bzw. mit 24-h-*in-situ*-Pellikel (6,4 HV zu 5,4 HV) der schwach konzentrierten Bonbons war ebenso nicht signifikant wie die Mikrohärteverluste beim Verzehr von 2,0 % zitronensäurehaltiger Bonbons hinsichtlich der beiden Pellikelqualitäten ( $p \geq 0,05$ ). Die Differenzen zwischen unterschiedlichen Säurestärken bei gleicher Pellikelqualität waren hingegen hochsignifikant ( $p \leq 0,001$ , Abb. 32).

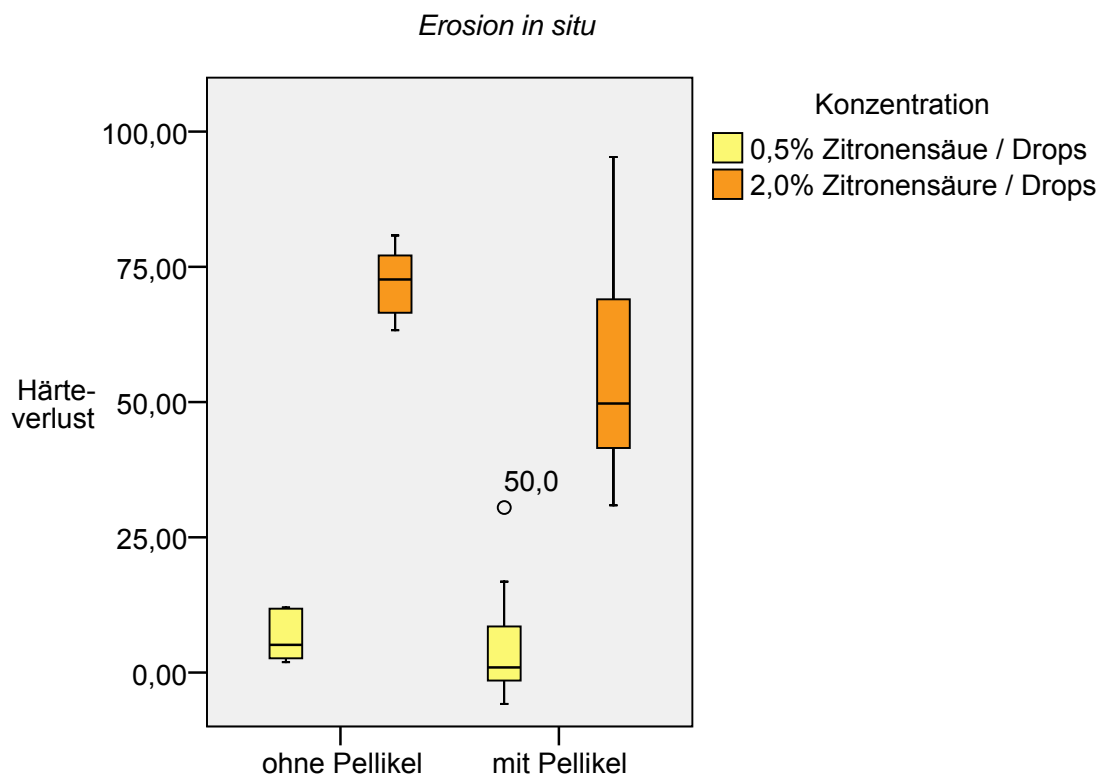


Abb. 32: Mikrohärteverluste der einzelnen Untersuchungsgruppen (Erosionsmodus *in situ*); farblich codiert die Verwendung unterschiedlicher Zitronensäurekonzentrationen pro Bonbons; links mit Pellikel *in situ nascendi*, rechts mit 24-h-*in-situ*-Pellikel

### 5.2.1.3. Mikrohärteverluste bei dynamischem und statischem Verzehrmodus

Die Untersuchungsgruppe, bei der *in situ* pellikelbedeckte (24-h-*in-situ*-Pell.) Zahnschmelzproben mit 2,0 % zitronensäurehaltige Bonbons getestet wurden, war nochmals unterteilt nach dem Verzehrmodus der Candies. Diese wurden entweder beim Verzehr alloral forciert bewegt (dynamischer Verzehr) oder es fand ein wechselseitiges Positionieren in der Wangentasche statt (statischer Verzehr).

Der mittlere Mikrohärteverlust nach der Lagerung in der Umschlagfalte ( $\Delta\text{HV} = 47,3$ ) war geringer als jener nach forciertem Bewegen ( $\Delta\text{HV} = 64,6$ ), allerdings blieb der Unterschied in dieser Versuchsanordnung zufällig ( $p \geq 0,05$ ). Die beiden Gruppen sind nachfolgend gegenübergestellt (Abb. 33).

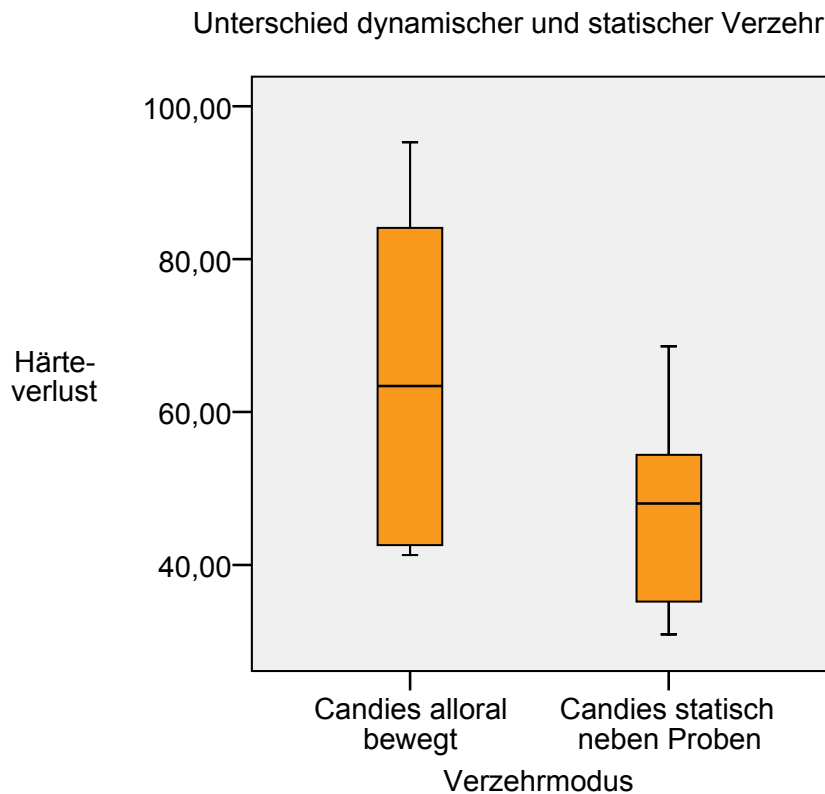


Abb. 33: Mikrohärteverluste bei dynamischem bzw. statischem Verzehr, Erosionsmodus *in situ* mit 24-h-*in-situ*-Pellikel und Verwendung 2,0%iger Zitronensäurebonbons

#### 5.2.1.4. Zusammenfassung der Mikrohärteuntersuchungen aus statistischer Sicht

Die statistische Prüfung (univariate Varianzanalyse) ergab Wechselwirkungen zwischen den Parametern „Zitronensäurekonzentration“, „Pellikel“ und „Erosionsmodus“. Deshalb wurden per Student-T-Test jeweils nur Gruppenmittelwerte miteinander verglichen, bei denen zwei Parameter konstant und nur ein Parameter variabel waren (Tab. 12). Um eine Verfälschung der statistischen Ergebnisse unter Annahme einer Normalverteilung auszuschließen, wurden die Gruppenunterschiede weiterhin per U-Test nach Mann und Whitney überprüft. Hierbei konnte eine Übereinstimmung der statistischen Aussagen beider Prüfverfahren festgestellt werden.

Tab. 12: Mittelwerte der Mikrohärteverluste der Untersuchungsgruppen

| Erosionsmodus         | <i>in vitro</i><br>ohne Pell. | <i>in vitro</i><br>mit 24-h-<br><i>in-situ</i> -Pell. | <i>in situ</i><br>mit Pell.<br><i>in statu</i><br><i>nascaendi</i> | <i>in situ</i><br>mit 24-h-<br><i>in-situ</i> -<br>Pell./dyn.<br>Verzehr | <i>in situ</i><br>mit 24-h-<br><i>in-situ</i> -<br>Pell./ stat.<br>Verzehr |
|-----------------------|-------------------------------|---|--|--|--|
| Zitronensäure in<br>% |                               |   |  |  |  |
| 0,5                   | 59,1 <sup>1,4</sup>           | 4,9 <sup>2,4</sup>                                    | 6,4 <sup>5</sup>   | 5,4 <sup>6</sup>   | n. d.  |
| 2,0                   | 152,6 <sup>1,3</sup>          | 55,8 <sup>2,3</sup>                                   | 72,2 <sup>5</sup>  | 64,6 <sup>6</sup>  | 47,39  |

„<sup>1</sup>“ bis „<sup>6</sup>“ - Mittelwerte mit gleichen Indizes unterschieden sich signifikant ( $p \leq 0,001$ )

Pell. - Pellikel

n. d. - nicht durchgeführt

Bei jeweils gleichen Pellikelqualitäten und Erosionsumgebungen war der Mikrohärteverlust bei Verwendung von 2,0 % Zitronensäure pro Bonbon signifikant größer als bei 0,5 % Zitronensäure pro Bonbon. Der Mikrohärteverlust bei pellikelbedeckten Schmelzoberflächen war beim Verzehr von Bonbons mit 2,0 % Zitronensäure zehnmal größer als bei 0,5 % Zitronensäure je Bonbon; ohne Pellikel unterschieden sich die Mikrohärteverluste nur um Faktor drei. Der Schutz einer Pellikel *in statu nascendi* war bei Erosionsexperimenten sowohl mit 0,5 als auch 2,0 % Zitronensäure je Bonbon dem einer 24-h-*in-situ*-Pellikel näherungsweise gleichzusetzen. Die jeweils größten Mikrohärteverluste der jeweiligen Säurestärken waren *in vitro* ohne Pellikelschutz festzustellen; sie unterschieden sich bezüglich der verwendeten Säurestärke der Bonbons signifikant voneinander.

### 5.2.2. Rasterelektronische Untersuchungen

Vereinzelte waren sowohl auf Kontroll-, als auch auf erodierten Proben parallel verlaufende, nicht vollständig polierte Schleifspuren und trocknungsbedingte Risse festzustellen (Abb. 34).

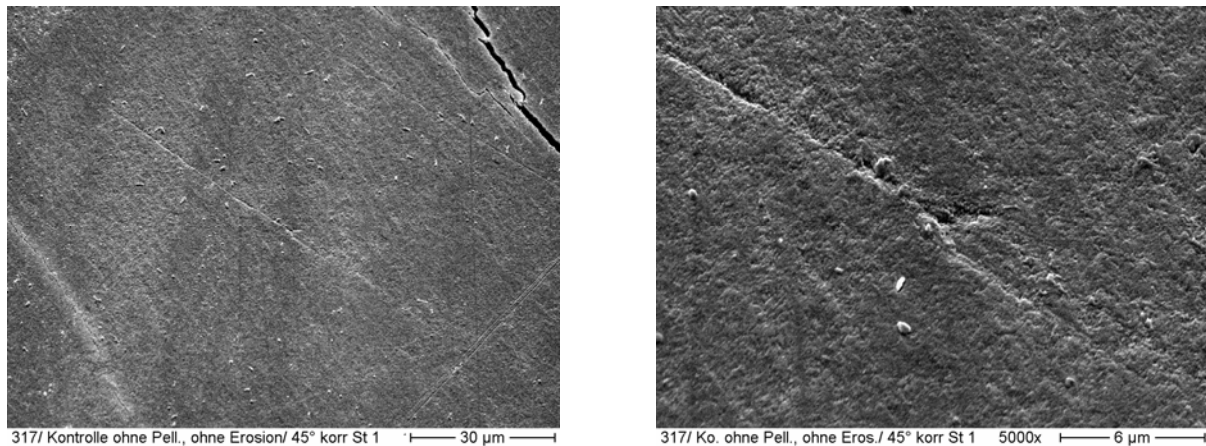


Abb. 34: Risse und Schleifspuren auf Schmelzoberflächen nach Glättung und Politur (links 1.000fach und rechts 5.000fach vergrößert)

Bei den Schmelzproben ohne Pellikel im Erosionsmodus *in vitro* waren eindeutige Erosionsspuren festzustellen. Es imponierten freigelegte kristalline Strukturen, die teilweise eine Regelmäßigkeit im Sinne von Prismenstrukturen erkennen ließen, jedoch keinen Bezug zur verwendeten Säurestärke zeigten (Abb. 35).

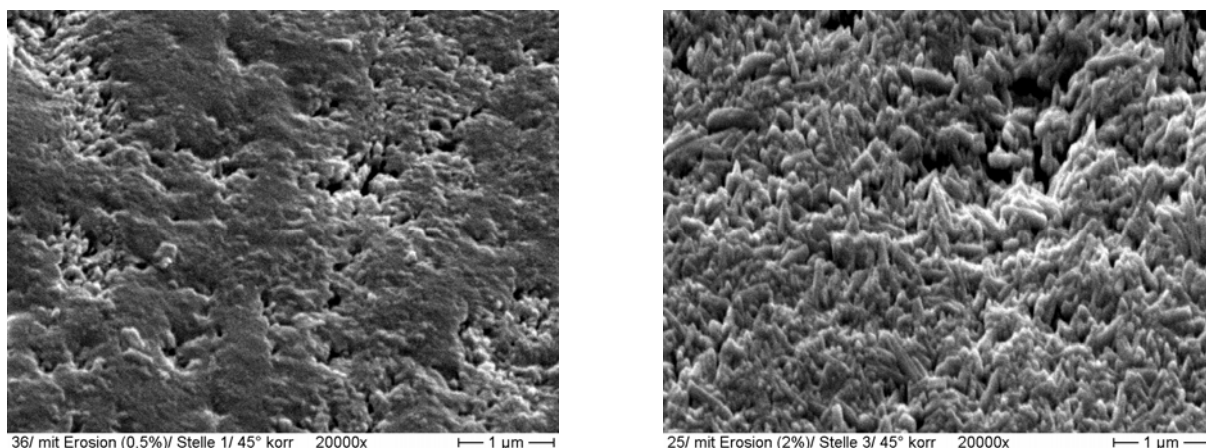


Abb. 35: Freigelegte Strukturen unterschiedlicher Größe durch Lösungen aus 0,5 % (links) und 2,0 % (rechts) Zitronensäuregehalt pro Bonbon (20.000fach vergrößert)

Neben erodierten Arealen waren auch nicht angegriffene Bereiche zu sehen (Abb. 36). Die Größe erodierter Areale nahm mit der Säurekonzentration der verwendeten Bonbons bzw. Lösungen zu.

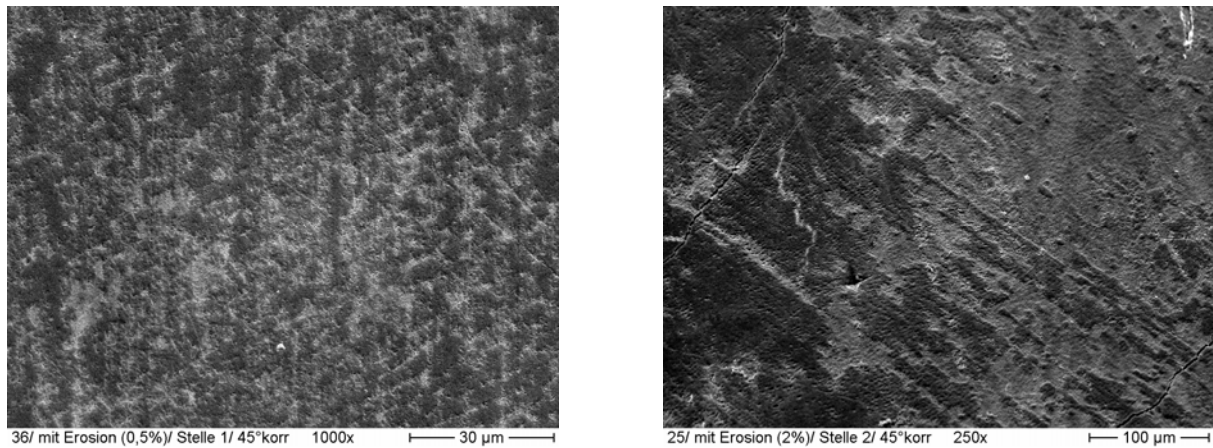


Abb. 36: Unterschiedlich große, erodierte Bereiche; nach Erosion durch Lösungen aus 0,5 % (links; 1.000fach vergrößert) und 2,0 % Zitronensäuregehalt pro Bonbon (rechts; 250fach vergrößert)

Proben, die ohne vorherige Pellikelbildung zeitgleich mit den Tropfen in die Mundhöhle eingebracht wurden (Erosionsmodus *in situ*, Pellikel *in statu nascendi*), zeigten auf kristalliner Ebene eine deutliche Abhängigkeit von der Zitronensäurekonzentration der verwendeten Bonbons. Während nach Verzehr niedrig konzentrierter Bonbons keine Anzeichen einer Erosion registriert wurden, waren nach Verzehr der höher konzentrierten Bonbons Erosionsvorgänge an den kristallinen Strukturen festzustellen. Sie ähnelten dem Muster des Erosionsmodus „*in vitro*, ohne Pellikel“ bei Verwendung schwach konzentrierter Bonbons, bei dem neben erodierten gleichzeitig auch nichterodierte Areale sichtbar wurden (Abb. 37).

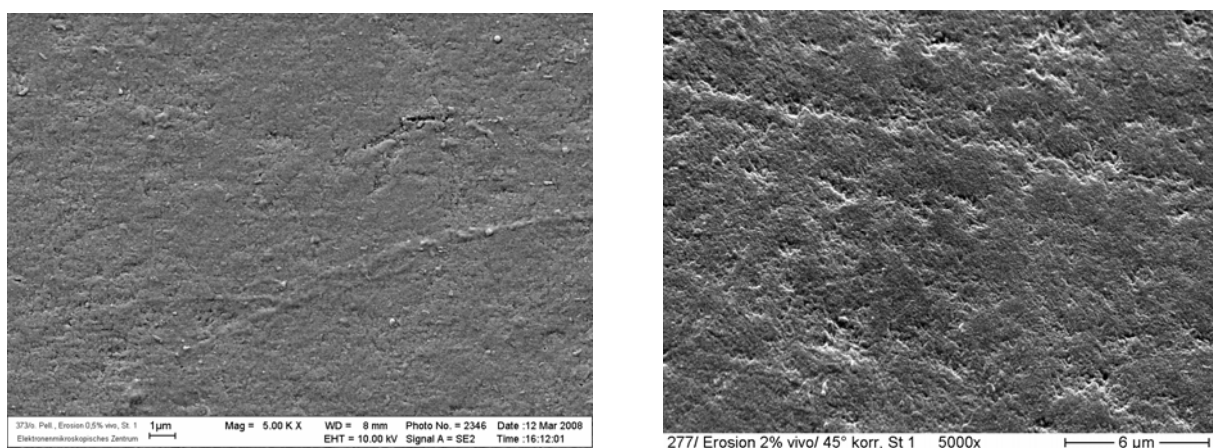


Abb. 37: Schmelzoberflächen ohne Pellikel links bzw. mit Pellikel *in statu nascendi* rechts, nach Erosion mit 0,5 % zitronensäurehaltigem Bonbon, rechts erodierte Areale mit kristallinen Strukturen (5.000fach vergrößert)

Die *in vitro* erodierten Proben, auf denen zuvor eine 24-h-*in-situ*-Pellikel ausgebildet wurde, zeigten weder bei Anwendung von 0,5 %, noch 2,0 % Zitronensäuregehalt je Candy eindeutig erkennbare Erosionsspuren. Vielmehr waren feingranuläre Auflagerungen im Sinne von Pellikelresten zu finden, die im Fall der geringeren Säurekonzentration homogener erschienen. Die Proben, die mit stärkeren Säurekonzentrationen erodiert wurden, zeigten neben klaren Erosionsspuren einen homogenen Belag im Sinne eines Residualpellikels, der der Schmelzoberfläche auflag (Abb. 38).

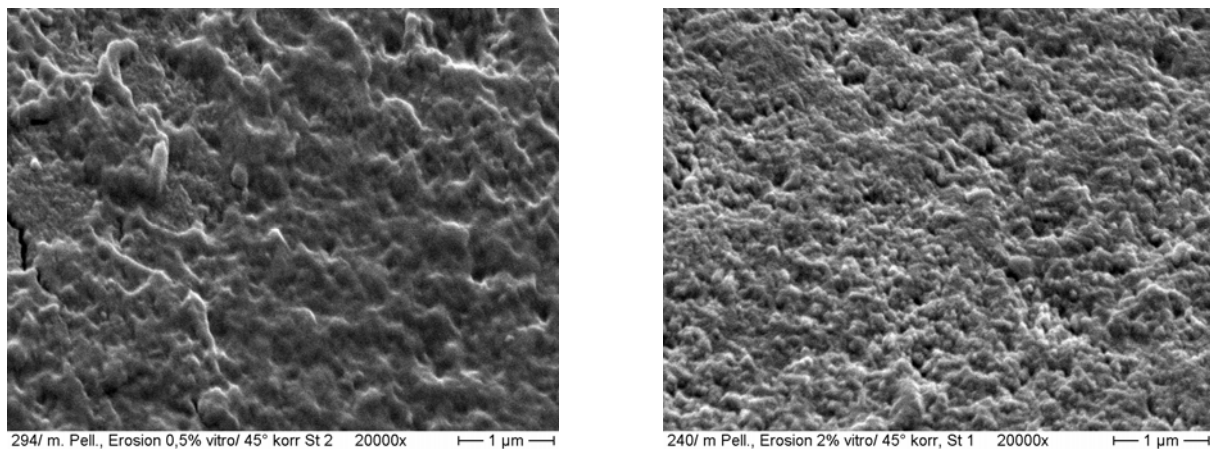


Abb. 38: Oberflächen mit Überresten einer 24-h-*in-situ*-Pellikel, nach Erosion *in vitro*; links homogene Bedeckung des Schmelzes nach Verwendung 0,5 % zitronensäurehaltiger Bonbons, rechts rauhere Strukturen nach Verwendung 2,0 % zitronensäurehaltiger Bonbons (20.000fach vergrößert)

Auf den *in situ* erodierten Proben mit einer 24-h-*in-situ*-Pellikel imponierte wiederum eine homogene, feinstrukturierte Bedeckung in Sinne einer Pellikel bzw. eines Pellikelrestes, die sich wenig durch die Verwendung stark oder schwach konzentrierter Candies unterschieden (Abb. 39).

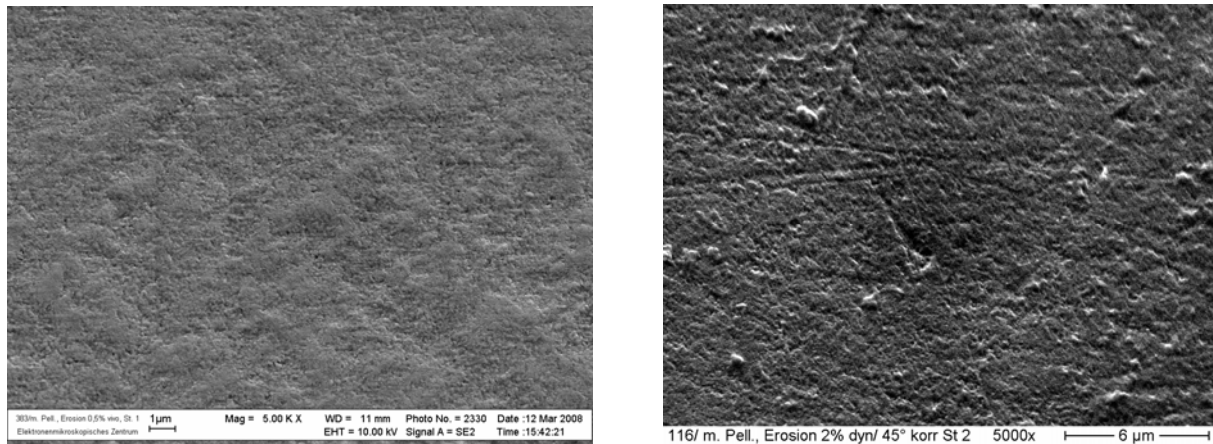


Abb. 39: Bedeckte Schmelzoberflächen mit 24-h-*in-situ*-Pellikel nach Erosion *in situ* bei 0,5 % (links) und 2,0 % (rechts) Zitronensäuregehalt je Candy (5.000fach vergrößert)

Auch unter maximaler Vergrößerung zeigten sich nur geringe Unterschiede in der Ausprägung der Textur des „Belags“; erodierte, unbedeckte Schmelzoberflächen waren nicht zu sehen (Abb. 40).

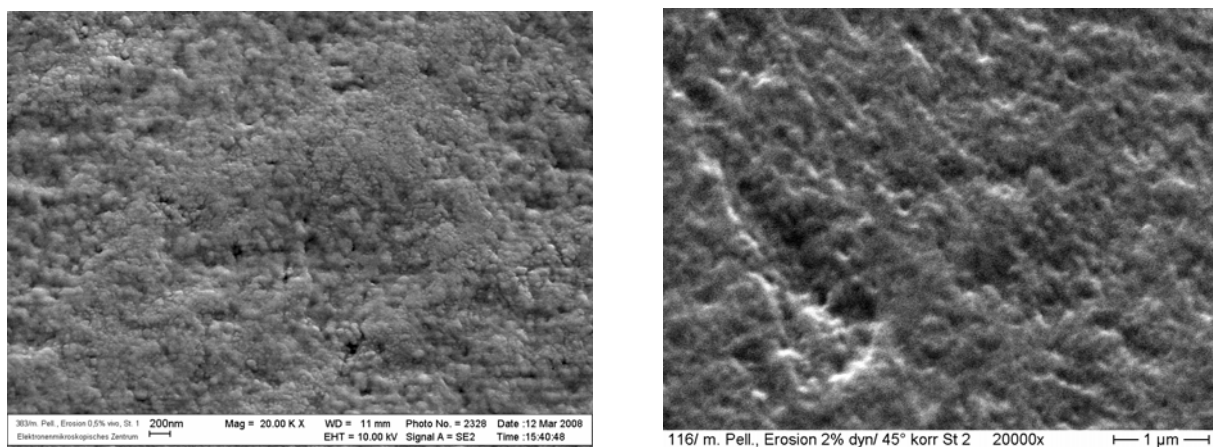


Abb. 40: Schmelzoberflächen mit 24-h-*in-situ*-Pellikel, nach Erosion *in situ* mit 0,5 % (links) und 2,0 % (rechts) Zitronensäuregehalt je Candy (20.000fach vergrößert)

Wenn das Bonbon während des Lutschvorgangs stetig alloral bewegt oder wechselseitig direkt neben den Schmelzproben platziert wurde (dynamischer vs. statischer Verzehr von Candies mit 2,0%igem Zitronensäuregehalt), bewirkte es Unterschiede im rasterelektronischen Erscheinungsbild. Die Schmelzoberfläche bzw. deren Auflagerungen (Pellikel) war nach dem dynamischen Verzehr weniger profiliert, wohingegen nach statischem Verzehr der Candies die Oberfläche ein strukturierteres Bild zeigte (Abb. 41).



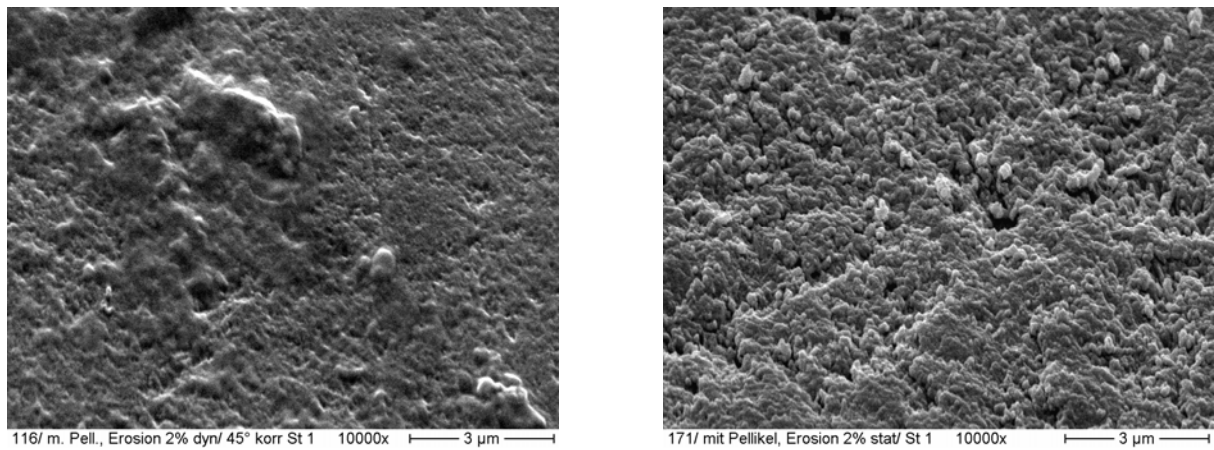


Abb. 41: Schmelzoberflächen mit 24-h-*in-situ*-Pellikel, Erosionsmodus *in situ*, nach Genuss von Candies mit 2,0 % Zitronensäuregehalt, links dynamischer Verzehr, rechts statischer Verzehr (10.000fach vergrößert)

## 6. Diskussion

Aufgrund der multifaktoriellen Genese erosiver Erscheinungen können mit *In-vitro*-Untersuchungen allein deren Entstehung und wirksame Präventionsmöglichkeiten nicht hinreichend erarbeitet werden. Da intraorale physiologische als auch pathophysiologische Abläufe zwischen einzelnen Individuen sehr verschieden und komplex sind (Wetton et al. 2007), kommt der Detektion erosiver Gefahren aus der Nahrung eine besondere Rolle zu. Ein bekanntes Kriterium zur Charakterisierung stellt in dieser Hinsicht der pH-Wert des Nahrungsmittels oder seiner Bestandteile dar (West et al. 2001).

### 6.1. pH-Werte des Speichels und saurer Lösungen

#### 6.1.1. pH-Werte wässriger Lösungen

Der pH-Wert charakterisiert die Konzentrationen freier Protonen, die bei Erosionsprozessen eine entscheidende Rolle einnehmen.

Vom chemischen Standpunkt unterscheidet man grundsätzlich starke und schwache Säuren. Einen Vertreter einer schwachen Säure stellt neben der Äpfelsäure, Essigsäure und Ascorbinsäure die in dieser Arbeit verwendete Zitronensäure dar. Der Terminus stark oder schwach sagt nichts über das erosive Potential einer Säure aus, vielmehr liegt bei einer schwachen Säure abhängig vom pH-Wert stets ein Anteil undissoziierter Säure vor. Ausdruck findet dies im  $pK_s$ -Wert einer Säure. Je höher dieser ist, umso eher handelt es sich bei der betreffenden Säure um eine schwache Säure (Zeeck 1997). Aufgrund ihres molekularen Aufbaus mit drei Karboxylgruppen besitzt die Zitronensäure drei  $pK_s$ -Werte (3,14, 4,77 und 6,39), d. h. bereits knapp unter pH 7 gibt die erste der drei dissoziierbaren Gruppen Protonen frei und startet damit Erosionsprozesse.

Der gemessene pH-Wert einer Lösung als Ausdruck der freien Protonenkonzentration lässt damit eine begrenzte Aussage über das erosive Potential dieser Lösung zu. Weitere Protonen können aber aus dem undissoziierten Anteil der Säure freigesetzt werden und puffern pH-Veränderungen des Speichels bzw. der Lösung. Damit sind auch die ermittelten pH-Werte der wässrigen Lösungen in der vorliegenden Arbeit mit Vorbehalt zu betrachten. Dieses Problem bestätigen z. B. Brown et al. (2007), die dem pH-Wert einer Lösung allein grundsätzlich nur eine mäßige Qualität hinsichtlich der Beurteilung des erosiven Potentials zugestehen.

Die vorliegenden Ergebnisse der pH-Messungen in wässrigen Lösungen von Bonbons mit definierten Zitronensäurekonzentrationen zeigten das charakteristische Verhalten schwacher Säuren hinsichtlich ihres pH-Wertes in wässriger Lösung. Lösungen eines Gramms des Bonbons unterschieden sich wenig von den Lösungen eines ganzen Dropses (Massenmittelwert 2,8 g), so differierte z. B. die Lösung unter Verwendung eines 0,5%igen Candies zwischen pH 3,07 (1 g) und 2,79 (ganzer Drops) bzw. bei 2,0%igen Candies zwischen pH 2,75 (1 g) und 2,40 (ganzer Drops). Ähnliche Ergebnisse beschrieben auch Hunter et. al (2008).

Grund dafür ist die Definition des pH-Wertes und das Lösungsverhalten schwacher Säuren. Der pH-Wert als negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration kann als Absolutwert nicht linear zur gelösten Menge Zitronensäure sein, da per definitionem ganzzahlige pH-Wertveränderungen einer Änderung der Protonenkonzentration um Faktor 10 entsprechen.

Wichtiger jedoch ist, dass die Zitronensäure als schwache, mehrprotonige Säure ein besonderes Dissoziationsverhalten besitzt, d. h. die Lösungsprozesse bedingen keinen linearen Zusammenhang zwischen Lösungsmittelmenge und der Protonenkonzentration in der entsprechenden Lösung (Cairns et al. 2002).

Damit ist der pH-Wert der wässrigen Lösung einer schwachen Säure nicht ausreichend, um das erosive Potential saurer Lutschware einzuschätzen. Verlässlichere Risikoabschätzungen sind nach West et al. (2001) und Hunter et al. (2008) durch Ermittlung titrierbarer Säurekapazitäten möglich.

### **6.1.2. Extraoral registrierte Speichel-pH-Werte**

Die in 60-s-Intervallen extraoral gesammelten Speichelproben während des Candylutschens zeigten eine eindeutige Abhängigkeit ihres pH-Wertes von der Zitronensäurekonzentration des aufgelösten Bonbons, d. h. Candies mit dem höchsten Zitronensäuregehalt führten zu den niedrigsten pH-Werten. Der jeweils minimalste pH-Wert konnte in der zweiten bzw. dritten Minute erfasst werden, stieg bis zum Ende der sechsten Minute (= vollständiges Lösen der Bonbons) über den Ruhe-pH-Wert an, um bis zur zwanzigsten Minute nach Verzehrbeginn auf das Ausgangsniveau zurückzukehren. Dieser Verlauf ist in allen auf Mittelwerten beruhenden pH-Verläufen zu erkennen (Abb. 25). Dass diese Verläufe keinen linearen Charakter aufzeigten, hat mehrere Ursachen. Einerseits benötigen die Speicheldrüsen Zeit, um die Speichelmenge (Dawes und Watanabe 1987) und damit

auch die Pufferkapazität (= Mineralgehalt) dem Stimulus anzupassen (Dawes und Kubieniec 2004). Andererseits ist das Lösen des Bonbons von dessen Oberflächengröße abhängig, die als grundsätzlich zylindrisch angesehen werden kann. Da der Radius eines Zylinders quadratisch in die Berechnung der vorhandenen Oberfläche eingeht, ist von einer exponentiellen Abnahme der Oberfläche während des Lösungsprozesses auszugehen. Somit wurde anfangs mehr Candy gelöst und bei kleiner werdender Oberfläche nahm die Menge Zitronensäure pro Zeiteinheit, die in Lösung ging, ab. Dieser Vorgang ist der Abbildung 27 dargestellt.

Ab dem Zeitpunkt des niedrigsten pH-Wertes führten die steigende Speichelfließrate und damit Puffer- und Verdünnungseffekte (Dawes 2008) bei geringerer, freier Säuremenge zu einem Wiederanstieg des pH-Wertes.

Der nach dem vollständigen Auflösen über pH 7 ansteigende Wert ist Ausdruck einer anhaltend hohen Fließrate und dadurch bedingten erhöhten Pufferkapazität des Speichels (Bikarbonatpuffer, (Dawes 2008)). Diese „Hyperkompensation“ reichte in den vorliegenden Versuchen ähnlich wie bei Dawes und Kubieniec (2004) bis zur 15. Minute nach Beendigung des Candylutschens.

### 6.1.3. Intraoral registrierte Speichel-pH-Werte

Im Gegensatz zu den extraoralen pH-Messungen konnte während des Lutschens und Messens intraoral keine eindeutige Abhängigkeit des niedrigsten pH-Wertes von der Säurekonzentration des verwendeten Candies festgestellt werden (Abb. 28). Während des Genusses der sauren Bonbons lag die Miniatur-Einstabmesskette lingual der regio 35/36 bzw. 45/46. An dieser Position münden die Ausführungsgänge der *Glandulae submandibulares* und *sublinguales*, so dass die ermittelten pH-Werte möglicherweise stark durch den dort vorherrschenden Speichelfluss beeinflusst waren und nicht die parallel vorherrschende erosive Situation widerspiegeln. Nach dem vollständigen Lösen der Bonbons stieg der pH-Wert ebenfalls über 7,0, um nach 20 Minuten ab Verzehrbeginn auf seine Ausgangsgröße zurückzukehren. Da bei den intraoralen Messungen der Speichel nicht gesammelt, sondern physiologisch geschluckt wurde, wurden die gelösten Bonbonanteile ebenso aus der Mundhöhle eliminiert. Zum Messzeitpunkt (stets nach 60 s) war somit eine unterschiedlich große Speichel- und Bonbonmenge in Elektrodennähe. Die pH-Momentaufnahme erfasste damit zwar den Speichelzufluss, jedoch nicht die kontinuierliche Auflösung des Bonbons und seine Verdünnung.

Wahrscheinlich entsprach der gemessene pH-Wert dem des frisch sezernierten Speichels im Sublingualraum, der als ein Kompartiment der gesamten Mundhöhle anzusehen ist. Unterschiedliche Speichelwirkungen je nach Lokalisation in der Mundhöhle beschrieben auch Amaechi und Higham (2001) bei Untersuchungen zum Remineralisationsverhalten von Zahnschmelz. Der Sublingualraum zeichnete sich dabei als Ort mit dem höchsten Remineralisationspotential aus, da dort diätetische Faktoren den geringsten Einfluss ausüben.

Verlässliche Aussagen über das erosive Potential saurer Nahrungs- und Genussmittel lassen sich mit einer intraoralen pH-Messung per Einstabmesskette nicht treffen, da die lokalisationspezifischen Vorgänge in der Mundhöhle während des Verzehrs zu stark in die Messungen einfließen.

#### **6.1.4. Telemetrische Speichel-pH-Werte**

Die mit dieser Methode erfassten pH-Minima lagen probandenspezifisch und säurestärkeabhängig zwischen 6,7 und 4,6 am Ende der vierten bis siebten Verzehrrminute (Abb. 29 a–c). Damit erreichten die minimalen pH-Werte nicht jene Bereiche, die bei der extraoralen Messung des Speichels registriert wurden, sanken jedoch weiter ab als bei den intraoralen, sublingualen Messungen per Einstabmesskette. Bei den telemetrischen Messungen wurden messtechnisch Mittelwerte pro Minute aus zehn Einzelwerten gebildet und damit einzelne Säurepeaks nicht vollständig berücksichtigt. Anders als bei der Messmethode mit der Einstabmesskette wurde aber nicht der pH-Wert des frisch sezernierten Speichels, sondern jener der Mundflüssigkeit *in toto* gemessen, wie sie physiologisch den Approximalraum und damit die Elektrode während der telemetrischen Messung erreichte. Während mit der Einstabmesskette in direkter Nähe eines Speicheldrüsenausführungsganges gemessen wurde, befand sich die telemetrische Elektrode im Zahnzwischenraum. Somit waren die Elektrodenpositionen nicht vergleichbar.

Verdünnungs-, Puffer- und Abschluckverhalten wurden durch die telemetrische Messmethode ebenso berücksichtigt wie das Residualvolumen des Speichels.

Die jeweils niedrigsten ermittelten pH-Werte (6,7 bis 5,2 für 0,5 % Zitronensäure je Drops; 4,6 bis 4,8 für 2,0 % Zitronensäure je Drops) schwankten zwischen den einzelnen Probanden und waren Ausdruck patientenindividueller Parameter (z. B. Fließrate des Speichels).

Auch Stößer et al. (2005) wiesen telemetrisch Zusammenhänge zwischen probandenspezifischen Speichelfließraten und intraoralen pH-Absenkungen nach Zuckerinkorporation nach. Johansson (2002) stellte nach Cola-Genuss moderat verschiedene pH-Absenkungen zwischen Populationen mit unterschiedlich stark ausgeprägten Erosionen fest, signifikante Zusammenhänge waren aber weniger zum ermittelten pH-Wert als zu bestimmtem Schluckmustern und dem Harnstoffgehalt der Speichelproben festzustellen.

Mit der telemetrischen Erfassung war es weiterhin möglich, aus den erfassten pH-Werten rechnerisch auftretende Säuremengen zu ermitteln (Tab. 8). Dabei waren für den Verzehr von 0,5 % bis 1,5 % Zitronensäure pro Bonbon bei allen drei Probanden Protonenkonzentrationen festzustellen, die bis auf eine Ausnahme unter dem Erosionslimit der „Aktion zahnfreundlich“ e. V. von 40  $\mu\text{mol/l}$  in 15 Minuten lagen. Mit 2,0 % Zitronensäure pro Bonbon erreichten alle drei Probanden Protonenkonzentrationen über 40  $\mu\text{mol/l}$  in 15 Minuten. Damit genügten die verwendeten Bonbons mit 2,0 % Zitronensäure trotz Zuckerfreiheit aufgrund ihrer erosiven Eigenschaften den Anforderungen des Prädikats „zahnfreundlich“ nicht.

Nach Watanabe und Dawes (1988) ist im Spektrum der Stimulantien des Speichels die Zitronensäure als besonderer Reiz anzusehen. Neben diesem Effekt muss bei den hier verwendeten Bonbons von einem zusätzlichen mastikativen Reiz ausgegangen werden. Der Speichelfluss in der menschlichen Mundhöhle stellt einen kontinuierlichen Prozess mit individuell differenter Fließrate dar, der aufgrund verschiedener Stimuli bis zum Fünffachen der Ruhespeichelfließrate gesteigert werden kann (Dawes 2008). Pufferkapazität, Fließrate, Abschluckfrequenz bzw. Speichelresidualvolumen fanden im gewählten Versuchsansatz nur eine summarische Berücksichtigung; je nach Messmethode prägten sie in unterschiedlichem Maße die Ergebnisse der durchgeführten intraoralen Untersuchungen.

## **6.2. Ergebnisse der Mikrohärteuntersuchungen**

Ergänzend zu den pH-Messungen der wässrigen bzw. Speichellösungen erfolgten mit Hilfe der Mikrohärteanalyse weitere Untersuchungen mit bovinen Schmelzproben, um das erosive Potential saurer Candies zu quantifizieren. Hierfür wurden Bonbons mit 0,5 % und 2,0 % Zitronensäure je Bonbon gewählt. Die telemetrischen

Untersuchungen attestierten den schwach konzentrierten Bonbons (0,5 % Zitronensäure) eine „Zahnfreundlichkeit“. Mit 2,0 % Zitronensäure pro Bonbon hingegen zeigten alle Messungen Protonenkonzentrationen von über 40  $\mu\text{mol/l}$  in 15 Minuten und schlossen damit eine Kennzeichnung dieser Bonbons als „zahnfreundlich“ nach den Vorgaben der „Aktion zahnfreundlich“ e. V. aus.

Der Mikrohärteverlust des bovinen Zahnschmelzes war in der vorliegenden Arbeit am größten, wenn unter *In-vitro*-Bedingungen die Schmelzproben ohne Pellikelschutz einer Lösung aus 2,0%igen Zitronensäurecandies ausgesetzt wurden (MW 152 HV Härteverlust). Unter gleichen Erosionsbedingungen (*in vitro*, ohne Pellikel) ergab sich hingegen bei Verwendung einer Lösung aus 0,5%igen Zitronensäurecandies eine Verringerung der oberflächlichen Mikrohärte von nur 59,1 HV.

Auch in allen anderen Versuchsgruppen (Erosionsmodus *in situ* und Pellikelqualität variabel) ergaben sich signifikant größere Mikrohärteverluste bei Verwendung der höheren Säurekonzentration pro Bonbon. Diese eindeutige Abhängigkeit des Härteverlustes von der verwendeten Säurekonzentration schildern auch Nekrashevych und Stößer (2003 und 2004), die unterschiedlich konzentrierte Zitronensäurelösungen zur Erosion des Zahnschmelzes nutzten. Andere Autoren beschrieben diesen Zusammenhang ebenfalls (West et al. 2000). Eine Inhibierung der säureinduzierten Oberflächenerweichung am Zahnschmelz konnte durch die Ausbildung der speichelinduzierten Pellikel beobachtet werden. Einen ausgeprägten Erosionsschutz der Pellikel stellten neben den bereits genannten Autoren (Nekrashevych und Stößer 2003) ebenfalls Hannig et al. (2004) und Wiegand et al. (2008) fest.

Die Mikrohärteverluste pellikelbedeckter Schmelzoberflächen nach Verwendung 0,5 % zitronensäurehaltiger Candies waren statistisch nicht signifikant unterschiedlich und derart gering gegenüber unbedeckten, unerodierten Oberflächen (MW Mikrohärteverlust zwischen 4,9 HV und 6,4 HV), dass hier nicht von einem tatsächlichen Härteverlust gesprochen werden kann (Tab. 12). Nur in der *In-vitro*-Versuchsreihe ohne Pellikel (MW 59,1 HV) war an den Schmelzproben ein eindeutiger Mikrohärteverlust zu verzeichnen.

Der Pellikelschutz war somit während des *In-vitro*-Modus ausreichend, um eine Oberflächenerweichung bei Verwendung von schwach konzentrierten Candies zu verhindern.

Unter *In-situ*-Bedingungen war ebenso trotz fehlender 24-h-*in-situ*-Pellikel keine wesentliche Oberflächenerweichung messbar. Dies war einerseits bedingt durch die erwähnten Verdünnungs- und Puffereffekte in der menschlichen Mundhöhle, andererseits war die initiale Pellikelbildung so ausgeprägt, dass die unmittelbar nach dem Inkorporieren der Schmelzproben bis dato unbedeckten Schmelzoberfläche vor der Säure geschützt war. Bei Hannig et al. (2004) genügten bereits Kontaktzeiten von 180 Sekunden, um einen messbaren Schutzeffekt gegenüber erosiven Medien zu realisieren.

Wurden Candies mit 2,0 % Zitronensäure verwendet, war unabhängig von der Versuchsumgebung (Erosionsmodus *in vitro/in situ*) der Schutzmechanismus der Pellikel geringer, aber ebenfalls festzustellen (Tab. 11).

*In vitro* zeigte sich bei Proben mit einer 24-h-*in-situ*-Pellikel ein Mikrohärteverlust, der nur ca. ein Drittel des Verlustes ohne Pellikel ausmachte (55,8 HV zu 152,6 HV;  $p \leq 0,001$ ; Tab. 10).

*In situ* war ein Unterschied zwischen Proben mit und ohne Pellikel zu erkennen, dieser war jedoch nicht signifikant. Das heißt, der erst parallel zum Lutschvorgang sich aufbauende Pellikelschutz am bis dato unbedeckten Schmelz (Pellikel *in statu nascendi*) erreichte zwar nicht vollständig (Mikrohärteverlust 72,2 HV) die Stärke einer 24-h-*in-situ*-Pellikel (Mikrohärteverlust 64,6 HV bzw. 47,3 HV), beide waren aber statistisch nicht voneinander abzugrenzen. Auch Hannig et al. (2003) schlussfolgerten aus wenig differenten Kalziumfreisetzungen aus Schmelzproben während Erosionsversuchen bei unterschiedlich lang gebildeter *In-situ*-Pellikel, dass nicht nur eine 24-h-*in-situ*-Pellikel einen guten Erosionsschutz bietet. Somit ließ sich aus den vorliegenden eigenen Resultaten feststellen, dass unter *In-situ*-Bedingungen eine Pellikel *in statu nascendi* einer 24-h-*in-situ*-Pellikel annähernd gleichzusetzen ist. Dies stimmt wiederum mit Ergebnissen von Hannig et al. (2003) überein, dass eine Reifung der Pellikel zu einer erhöhten Säureresistenz der Pellikel führt, sich jedoch nicht verstärkend auf ihre Schutzfunktion am Zahnschmelz gegenüber Säuren auswirkt.



Unterschiede im Schutz der Schmelzoberfläche durch eine 24-h-*in-situ*-Pellikel ergaben sich in vorliegender Arbeit durch den Verzehrmodus. Während eine forcierte Bewegung des Bonbons in der gesamten Mundhöhle (dynamisches Lutschen) bei gleicher Pellikelqualität zu einem höheren Mikrohärteverlust beim Verzehr führte (64,6 HV), war bei der Lagerung des Bonbons in der Umschlagfalte ein geringerer Härteverlust (47,3 HV) zu verzeichnen. Im statischen Verzehrmodus waren nach fünf Minuten noch Bonbonreste in der Mundhöhle anzutreffen. Damit war die freigesetzte Zitronensäuremenge im statischen Verzehrmodus geringer. Ob eine Verlängerung der Lutschzeit die Erosion verstärkt hätte, kann nicht geschlussfolgert werden, da bei verlängerter Verzehrszeit ebenso der Speichel gewirkt hätte.

### 6.3. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Die vorgenommene deskriptive Bewertung von Erosionsspuren auf den Schmelzoberflächen als akzessorisches Instrument zu quantitativen Untersuchungen stellt eine Vorgehensweise dar, wie sie auch von anderen Autoren, z. B. Johanssen et al. (2001), Nekrashevych und Stößer (2003), genutzt wurde. Interindividuelle Unterschiede zwischen verschiedenen Schmelzproben bei gleichen Erosionsmodi, wie sie auch bei vorliegenden Untersuchungen zu finden waren, beschrieben ebenfalls Lussi et al. (1993) und Grando et al. (1996).

Das REM-Erscheinungsbild polierter Schmelzoberflächen zeigte ebene, teilweise durch Schleifspuren und Risse unterbrochene Flächen. Trotz kontrolliertem Abtrag von maximal 200 µm im Rahmen der Aufbereitung waren neben aprismatischen auch prismatische Schmelzareale mit typischer Struktur zu finden.

Im mikroskopischen Erscheinungsbild waren Erosionen bei jenen Proben zu sehen, die ohne Pellikelbedeckung einer Säureattacke *in vitro* ausgesetzt waren (Abb. 34 und 35). Hierbei war in Übereinstimmung mit Nekrashevych und Stößer (2003) besonders die Größe der erodierten Areale proportional zur Säurekonzentration. Prismenstrukturen waren nach dem Lutschen 0,5%iger und 2,0%iger Bonbons ansatzweise freigelegt, daneben waren aber auch unstrukturierte, aufgelockerte Schmelzanteile zu finden. Dies lag wahrscheinlich an der schwer zu berücksichtigenden individuellen Dicke der aprismatischen Schmelzschicht im Rahmen der Probenaufbereitung. Nach der Erosion waren somit quer und längs

getroffene, prismatische Schmelzanteilen und auch aprismatische, erodierte Schmelzanteile zu finden (Abb. 35).

Eine Pellikel *in statu nascendi* war auf den erodierten Proben, die ohne Pellikel zeitgleich mit den sauren Bonbons inkorporiert wurden, nicht eindeutig festzustellen. Lediglich eine leicht verwaschen erscheinende, oberflächliche Auflagerung auf der Schmelzoberfläche, wie sie auch Hannig (1999) beschrieb, deutete darauf hin (Abb. 37).

Davon zu unterscheiden waren die Proben mit einer Bedeckung durch eine 24-h-*in-situ*-Pellikel. Auf ihnen waren grundsätzlich globulär strukturierte Auflagerungen im Sinne einer gereiften Pellikel zu finden (Abb. 39 und 40), eine teilweise bakterielle Besiedlung war nicht auszuschließen. Je nach verwendeter Zitronensäurekonzentration der Bonbons veränderten die erosiven Agenzien diese Strukturen und führten bei höherer Säurekonzentration zu einer Verfeinerung der Textur der Pellikel (Abb. 37). Auch die Versuche *in vitro* zeigten gegenüber den Versuchen *in situ* die Tendenz, klarere strukturiertere Oberflächen „freizulegen“ (Abb. 37 vs. 39).

Eine vollständig unbedeckte, freiliegende Schmelzoberfläche nach fünfminütiger *In-vitro*- bzw. *In-situ*-Erosion war nicht zu detektieren.

In Übereinstimmung mit Hannig et al. (2003) kann von einem Angriff der Zitronensäure auf die Pellikel ausgegangen werden, der sowohl von der Säurekonzentration als auch vom Erosionsmodus (*in vitro/in situ*) abhängig war und entweder tiefere (= basale) Schichten der Pellikel freilegte bzw. in der oberflächlichen Pellikelschicht zu einer Auflockerung im Proteingefüge führte.

## 7. Schlussfolgerungen

Diätetische Säuren dissoziieren nicht vollständig, so dass der pH-Wert nur bedingt die Stärke ihrer erosiven Eigenschaften reflektiert.

Süßwaren mit Zitronensäure setzen während des Konsums Säure frei, die in Lösung anfangs etwa ein Fünftel der Konzentration im Festprodukt erreicht.

Das erosive Potential kann im Speichelspeichel extraoral oder telemetrisch intraoral gemessen werden. Eine Einstabmesskette registriert den ortsgebundenen pH-Wert, der durch Speichelstimulation und –sekretion am jeweiligen Ort stark beeinflusst wird.

Schmelz ohne Pellikel wird selbst durch niedrige Säurekonzentrationen, wie sie beim Candyverzehr entstehen (0,08 – 0,40 %), erosiv geschädigt.

Die 24-h-*in-situ*-Pellikel schützt den Zahnschmelz bei niedriger Säurekonzentration in der Süßware (0,5 %) fast vollständig.

Hohe Zitronensäurekonzentrationen ( $\geq 2,0$  %) in der Süßware rufen Erosionen am Zahnschmelz hervor, der durch eine 24-h-*in-situ*-Pellikel oder eine Pellikel *in statu nascendi* fast gleichermaßen geschützt wird.

Die rasterelektronenmikroskopische Begutachtung der Erosion bestätigt die Konzentrationsabhängigkeit der Auflösungsvorgänge des Schmelzes.

Der derzeitige Grenzwert von 40  $\mu\text{mol/l}$   $[\text{H}^+]$  in 15 Minuten aus pH-telemetrischen Untersuchungen scheint ein sicheres Limit zur Vermeidung von Erosionen zu sein, wobei die titrierbare Säuremenge nach Lussi et al. (1993) eine zusätzlich zu berücksichtigende Größe darstellt.

## 8. Literaturverzeichnis

1. Addy M, Shellis RP. 2006. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci*, 20:17-31.
2. Al-Hashimi I, Levine MJ. 1989. Characterization of in vivo salivary-derived enamel pellicle. *Arch Oral Biol*, 34 (4):289-295.
3. Al-Majed I, Maguire A, Murray JJ. 2002. Risk factors for dental erosion in 5-6 year old and 12-14 year old boys in Saudi Arabia. *Community Dent Oral Epidemiol*, 30 (1):38-46.
4. Amaechi BT, Higham SM. 2001. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. *Arch Oral Biol*, 46 (8):697-703.
5. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A. 1999. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res*, 78 (12):1821-1828.
6. Amerongen AV, Veerman EC. 2002. Saliva - the defender of the oral cavity. *Oral Dis*, 8 (1):12-22.
7. Amin WM, Al-Omoush SA, Hattab FN. 2001. Oral health status of workers exposed to acid fumes in phosphate and battery industries in Jordan. *Int Dent J*, 51 (3):169-174.
8. Arends J, Christoffersen J, Ruben J, Jongebloed WL. 1989. Remineralization of bovine dentine in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. *Caries Res*, 23 (5):309-314.
9. Attin T, Koidl U, Buchalla W, Schaller HG, Kielbassa AM, Hellwig E. 1997. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Arch Oral Biol*, 42 (3):243-250.
10. Banderas-Tarabay JA, Gonzalez-Begne M, Sanchez-Garduno M, Millan-Cortez E, Lopez-Rodriguez A, Vilchis-Velazquez A. 1997. [The flow and concentration of proteins in human whole saliva]. *Salud Publica Mex*, 39 (5):433-441.
11. Barbour ME, Shellis RP. 2007. An investigation using atomic force microscopy nanoindentation of dental enamel demineralization as a function of undissociated acid concentration and differential buffer capacity. *Phys Med Biol*, 52 (4):899-910.
12. Bardow A, Moe D, Nyvad B, Nauntofte B. 2000. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO<sub>2</sub>. *Arch Oral Biol*, 45 (1):1-12.

13. Bartlett D. 2006. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci*, 20:119-139.
14. Besic FC, Bayard M, Wiemann MR, Jr., Burrell KH. 1975. Composition and structure of dental enamel: elemental composition and crystalline structure of dental enamel as they relate to its solubility. *J Am Dent Assoc*, 91 (3):594-601.
15. Bots CP, Brand HS, Veerman EC, Valentijn-Benz M, Henskens YM, Valentijn RM, Vos PF, Bijlsma JA, Ter Wee PM, Van Amerongen BM, Nieuw Amerongen AV. 2007. Acute effects of hemodialysis on salivary flow rate and composition. *Clin Nephrol*, 67 (1):25-31.
16. Brookes SJ, Robinson C, Kirkham J, Bonass WA. 1995. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. *Arch Oral Biol*, 40 (1):1-14.
17. Brown CJ, Smith G, Shaw L, Parry J, Smith AJ. 2007. The erosive potential of flavoured sparkling water drinks. *Int J Paediatr Dent*, 17 (2):86-91.
18. Cairns AM, Watson M, Creanor SL, Foye RH. 2002. The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion. *J Dent*, 30 (7-8):313-317.
19. Centerwall BS, Armstrong CW, Funkhouser LS, Elzay RP. 1986. Erosion of dental enamel among competitive swimmers at a gas-chlorinated swimming pool. *Am J Epidemiol*, 123 (4):641-647.
20. Chikte UM, Naidoo S, Kolze TJ, Grobler SR. 2005. Patterns of tooth surface loss among winemakers. *SADJ*, 60 (9):370-374.
21. Christensen GJ. 2002. Oral care for patients with bulimia. *J Am Dent Assoc*, 133 (12):1689-1691.
22. Combe EC. 1984. Zahnärztliche Werkstoffe Zusammensetzung, Verarbeitung, Anwendung. 22-23.
23. Coombes JS. 2005. Sports drinks and dental erosion. *Am J Dent*, 18 (2):101-104.
24. Dawes C. 1969. The effects of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human parotid saliva. *Arch Oral Biol*, 14 (3):277-294.
25. Dawes C. 1972. Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition. *J Physiol*, 220 (3):529-545.
26. Dawes C. 1984. Stimulus effects on protein and electrolyte concentrations in parotid saliva. *J Physiol*, 346:579-588.
27. Dawes C. 2008. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc*, 139 Suppl:18S-24S.

28. Dawes C, Watanabe S. 1987. The effect of taste adaptation on salivary flow rate and salivary sugar clearance. *J Dent Res*, 66 (3):740-744.
29. Dawes C, Kubieniec K. 2004. The effects of prolonged gum chewing on salivary flow rate and composition. *Arch Oral Biol*, 49 (8):665-669.
30. Deimling D, Breschi L, Hoth-Hannig W, Ruggeri A, Hannig C, Nekrashevych Y, Prati C, Hannig M. 2004. Electron microscopic detection of salivary alpha-amylase in the pellicle formed in situ. *Eur J Oral Sci*, 112 (6):503-509.
31. Dyer D, Addy M, Newcombe RG. 2000. Studies in vitro of abrasion by different manual toothbrush heads and a standard toothpaste. *J Clin Periodontol*, 27 (2):99-103.
32. Eccles JD, Jenkins WG. 1974. Dental erosion and diet. *J Dent*, 2 (4):153-159.
33. Eccles JD. 1982. Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion. *Dent Update*, 9 (7):373-374, 376-378, 380-371.
34. Eisbruch A, Ship JA, Dawson LA, Kim HM, Bradford CR, Terrell JE, Chepeha DB, Teknos TN, Hogikyan ND, Anzai Y, Marsh LH, Ten Haken RK, Wolf GT. 2003. Salivary gland sparing and improved target irradiation by conformal and intensity modulated irradiation of head and neck cancer. *World J Surg*, 27 (7):832-837.
35. Eisenburger M, Addy M. 2002. Erosion and attrition of human enamel in vitro part I: interaction effects. *J Dent*, 30 (7-8):341-347.
36. Esser M, Tinschert J, Marx R 1998. Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Bergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z*, 53: 713-717.
37. Featherstone JD, Lussi A. 2006. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci*, 20:66-76.
38. Fejerskov O, Stephen KW, Richards A, Speirs R. 1987. Combined effect of systemic and topical fluoride treatments on human deciduous teeth--case studies. *Caries Res*, 21 (5):452-459.
39. Ganss C, Schlechtriemen M, Klimek J. 1999. Dental erosions in subjects living on a raw food diet. *Caries Res*, 33 (1):74-80.
40. Ganss C, Klimek J, Schaffer U, Spall T. 2001. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res*, 35 (5):325-330.
41. Ganss C, Schlueter N, Klimek J. 2007 . Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions - A comparison of in vitro and in situ results. *Arch Oral Biol*, 52 (1):9-14.

42. Garrett JR. 1987. The proper role of nerves in salivary secretion: a review. *J Dent Res*, 66 (2):387-397.
43. Grando LJ, Tames DR, Cardoso AC, Gabilan NH. 1996. In vitro study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in deciduous teeth analysed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy. *Caries Res*, 30 (5):373-378.
44. Grippo JO, Simring M, Schreiner S. 2004. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. *J Am Dent Assoc*, 135 (8):1109-1118; quiz 1163-1105.
45. Gron P, Messer AC. 1965. An investigation of the state of carbon dioxide in human saliva. *Arch Oral Biol*, 10 (5):757-763.
46. Gudmundsson K, Kristleifsson G, Theodors A, Holbrook WP. 1995. Tooth erosion, gastroesophageal reflux, and salivary buffer capacity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 79 (2):185-189.
47. Hannig M. 1999. Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. *Clin Oral Investig*, 3 (2):88-95.
48. Hannig M, Balz M. 1999. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res*, 33 (5):372-379.
49. Hannig M, Balz M. 2001. Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion. *Caries Res*, 35 (2):142-148.
50. Hannig M, Hess NJ, Hoth-Hannig W, De Vrese M. 2003. Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization--an in situ pilot study. *Clin Oral Investig*, 7 (3):158-161.
51. Hannig M, Fiebiger M, Guntzer M, Dobert A, Zimehl R, Nekrashevych Y. 2004. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol*, 49 (11):903-910.
52. Hannig C, Hannig M, Attin T. 2005a. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci*, 113 (1):2-13.
53. Hannig M, Khanafer AK, Hoth-Hannig W, Al-Marrawi F, Acil Y. 2005b. Transmission electron microscopy comparison of methods for collecting in situ formed enamel pellicle. *Clin Oral Investig*, 9 (1):30-37.
54. Hara AT, Lussi A, Zero DT. 2006. Biological factors. *Monogr Oral Sci*, 20:88-99.
55. Hara AT, Zero, DT. 2008. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci*, 116 (1):60-65.
56. Hay DI. 1967. The adsorption of salivary proteins by hydroxyapatite and enamel. *Arch Oral Biol*, 12 (8):937-946.

57. He LH, Swain MV. 2007. Influence of environment on the mechanical behaviour of mature human enamel. *Biomaterials*, 28 (30):4512-4520.
58. He LH, Fujisawa N, Swain MV. 2006. Elastic modulus and stress-strain response of human enamel by nano-indentation. *Biomaterials*, 27 (24):4388-4398.
59. Hellstrom I. 1977. Oral complications in anorexia nervosa. *Scand J Dent Res*, 85 (1):71-86.
60. Hellwig E, Lussi A. 2006. Oral hygiene products and acidic medicines. *Monogr Oral Sci*, 20:112-118.
61. Holst J, Lange F. 1939. A contribution towards the genesis of tooth wasting from non-mechanical causes. *Acta Odontol Scand*, 26:396.
62. Hooper S, West NX, Sharif N, Smith S, North M, De'Ath J, Parker DM, Roedig-Penman A, Addy M. 2004. A comparison of enamel erosion by a new sports drink compared to two proprietary products: a controlled, crossover study in situ. *J Dent*, 32 (7):541-545.
63. Humphrey SP, Williamson RT. 2001. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent*, 85 (2):162-169.
64. Hunter ML, Patel R, Loyn T, Morgan MZ, Fairchild R, Rees JS. 2008. The effect of dilution on the in vitro erosive potential of a range of dilutable fruit drinks. *Int J Paediatr Dent*, 18 (4):251-255.
65. Huszar G. 1971. [Studies on the thickness of dental enamel]. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol*, 14 (2):155-167.
66. Imfeld T. 1996. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci*, 104 (2 ( Pt 2)):151-155.
67. Jager DH, Vieira AM, Ruben JL, Huysmans MC. 2008. Influence of beverage composition on the results of erosive potential measurement by different measurement techniques. *Caries Res*, 42 (2):98-104
68. Jarvinen V, Meurman JH, Hyvarinen H, Rytomaa I, Murtomaa H. 1988. Dental erosion and upper gastrointestinal disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 65 (3):298-303.
69. Jarvinen VK, Rytomaa, II, Heinonen OP. 1991. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res*, 70 (6):942-947.
70. Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P. 2005a. Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro. *J Dent*, 33 (7):569-575.
71. Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A. 2005b. Effects of sucking acidic candy on whole-mouth saliva composition. *Caries Res*, 39 (6):468-474.



72. Johansson AK. 2002. On dental erosion and associated factors. *Swed Dent J Suppl*, (156):1-77.
73. Johansson AK, Sorvari R, Birkhed D, Meurman JH. 2001. Dental erosion in deciduous teeth--an in vivo and in vitro study. *J Dent*, 29 (5):333-340.
74. Jost-Brinkmann PG. 1998. The influence of air polishers on tooth enamel. An in-vitro study. *J Orofac Orthop*, 59 (1):1-16.
75. Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H. 2001. [Effects of saliva substitutes and mouthwash solutions on dentin]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 111 (9):1060-1066.
76. Kreusser W, Heidland A, Hennemann H, Wigand ME, Knauf H. 1972. Mono- and divalent electrolyte patterns, pCO<sub>2</sub> and pH in relation to flow rate in normal human parotid saliva. *Eur J Clin Invest*, 2 (6):398-406.
77. Lamanda A, Cheaib Z, Turgut MD, Lussi A. 2007. Protein buffering in model systems and in whole human saliva. *PLoS ONE*, 2 (2):e263.
78. Larsen MJ, Nyvad B. 1999. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res*, 33 (1):81-87.
79. Lee VM, Linden RW. 1992. An olfactory-submandibular salivary reflex in humans. *Exp Physiol*, 77 (1):221-224.
80. Lee WC, Eakle WS. 1984. Possible role of tensile stress in the etiology of cervical erosive lesions of teeth. *J Prosthet Dent*, 52 (3):374-380.
81. LeGeros RZ. 1991. Calcium phosphates in oral biology and medicine. *Monogr Oral Sci*, 15:1-201.
82. Linden LA, Bjorkman S, Hattab F. 1986. The diffusion in vitro of fluoride and chlorhexidine in the enamel of human deciduous and permanent teeth. *Arch Oral Biol*, 31 (1):33-37.
83. Lippert F, Parker DM, Jandt KD. 2004a. In vitro demineralization /remineralization cycles at human tooth enamel surfaces investigated by AFM and nanoindentation. *J Colloid Interface Sci*, 280 (2):442-448.
84. Lippert F, Parker DM, Jandt KD. 2004b. Susceptibility of deciduous and permanent enamel to dietary acid-induced erosion studied with atomic force microscopy nanoindentation. *Eur J Oral Sci*, 112 (1):61-66.
85. Lugaz O, Pillias AM, Boireau-Ducept N, Faurion A. 2005. Time-intensity evaluation of acid taste in subjects with saliva high flow and low flow rates for acids of various chemical properties. *Chem Senses*, 30 (1):89-103.

86. Lupi-Pegurier L, Muller M, Leforestier E, Bertrand MF, Bolla M. 2003. In vitro action of Bordeaux red wine on the microhardness of human dental enamel. *Arch Oral Biol*, 48 (2):141-145.
87. Lussi A, Jaeggi T. 2006. Chemical factors. *Monogr Oral Sci*, 20:77-87.
88. Lussi A, Schaffner M, Hotz P, Suter P. 1992. The erosion of dental hard substance. Its epidemiology, clinical appearance, risk factors and preventive rules. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 102 (3):320-329.
89. Lussi A, Jaggi T, Scharer S. 1993. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res*, 27 (5):387-393.
90. Lussi A, Portmann P, Burhop B. 1997. Erosion on abraded dental hard tissues by acid lozenges: an in situ study. *Clin Oral Investig*, 1 (4):191-194.
91. Mannerberg F. 1961. Changes in the enamel surface in cases of erosion. A replica study. *Arch Oral Biol*, 4:59-62.
92. Mc Cay CM, Will L. 1949. Erosion of molar teeth by acid beverages. *J Nutr*, 39 (3):313-324
93. Meurman JH, Murtomaa H. 1986. Effect of effervescent vitamin C preparations on bovine teeth and on some clinical and salivary parameters in man. *Scand J Dent Res*, 94 (6):491-499.
94. Meurman JH, Frank RM. 1991. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res*, 25 (2):81-87.
95. Meurman JH, ten Cate JM. 1996. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci*, 104 (2 ( Pt 2)):199-20
96. Milosevic A. 1997. Sports drinks hazard to teeth. *Br J Sports Med*, 31 (1):28-30.
97. Moss-Salentijn L. 1997. Melvin L. Moss and the functional matrix. *J Dent Res*, 76 (12):1814-1817.
98. Nekrashevych Y, Stößer L. 2003. Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. *Caries Res*, 37 (3):225-231.
99. Nekrashevych Y, Hannig M, Stößer L. 2004. Assessment of enamel erosion and protective effect of salivary pellicle by surface roughness analysis and scanning electron microscopy. *Oral Health Prev Dent*, 2 (1):5-11.
100. Nunn JH, Gordon PH, Morris AJ, Pine CM, Walker A. 2003. Dental erosion -- changing prevalence? A review of British National childrens' surveys. *Int J Paediatr Dent*, 13 (2):98-105.

101. Owens BM. 2007. The potential effects of pH and buffering capacity on dental erosion. *Gen Dent*, 55 (6):527-531
102. Poole DF, Brooks AW. 1961. The arrangement of crystallites in enamel prisms. *Arch Oral Biol*, 5:14-26.
103. Poole DF, Newman HN, Dibdin GH. 1981. Structure and porosity of human cervical enamel studied by polarizing microscopy and transmission electron microscopy. *Arch Oral Biol*, 26 (12):977-982.
104. Prinz JF. 2004. Abrasives in foods and their effect on intra-oral processing: a two-colour chewing gum study. *J Oral Rehabil*, 31 (10):968-971.
105. Pschyrembl. 1998. *Klinisches Wörterbuch* (258):1708.
106. Richards JR, Brofeldt BT. 2000. Patterns of tooth wear associated with methamphetamine use. *J Periodontol*, 71 (8):1371-1374.
107. Robb ND, Smith BG. 1990. Prevalence of pathological tooth wear in patients with chronic alcoholism. *Br Dent J*, 169 (11):367-369.
108. Rugg-Gunn AJ, Maguire A, Gordon PH, McCabe JF, Stephenson G. 1998. Comparison of erosion of dental enamel by four drinks using an intra-oral applicance. *Caries Res*, 32 (5):337-343.
109. Rytomaa I, Meurman JH, Franssila S, Torkko H. 1989. Oral hygiene products may cause dental erosion. *Proc Finn Dent Soc*, 85 (3):161-166.
110. Rytomaa I, Jarvinen V, Kanerva R, Heinonen OP. 1998. Bulimia and tooth erosion. *Acta Odontol Scand*, 56 (1):36-40.
111. Schemel W, Hummel K, Krekeler G, Soltesz U. 1985. [Hardness tests on the enamel, dentin and cementum of historic and prehistoric human teeth]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 95 (1):31-40.
112. Schiebler TH. 1997. *Anatomie*. (7):439 - 440.
113. Schweizer-Hirt CM, Schait A, Schmid R, Imfeld T, Lutz F, Muhlemann HR. 1978. [Erosion and abrasion of the dental enamel. Experimental study]. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd*, 88 (5):497-529.
114. Selvig KA, Halse A. 1972. Crystal growth in rat incisor enamel. *Anat Rec*, 173 (4):453-468.
115. Shellis RP. 1984. Relationship between human enamel structure and the formation of caries-like lesions in vitro. *Arch Oral Biol*, 29 (12):975-981.
116. Siggaard-Andersen O. 1963. The acid-base status of the blood. *Scand J Clin Lab Invest*, 15(Suppl 70):1-134.

117. Skaleric U, Ravnik C, Cevc P, Schara M. 1982. Microcrystal arrangement in human deciduous dental enamel studied by electron paramagnetic resonance. *Caries Res*, 16 (1):47-50.
118. Skjorland KK, Rykke M, Sonju T. 1995. Rate of pellicle formation in vivo. *Acta Odontol Scand*, 53 (6):358-362.
119. Smith BG, Knight JK. 1984a. An index for measuring the wear of teeth. *Br Dent J*, 156 (12):435-438.
120. Smith BG, Knight JK. 1984b. A comparison of patterns of tooth wear with aetiological factors. *Br Dent J*, 157 (1):16-19.
121. Sonju Clasen AB, Hannig M, Skjorland K, Sonju T. 1997. Analytical and ultrastructural studies of pellicle on primary teeth. *Acta Odontol Scand*, 55 (6):339-343.
122. Spears IR. 1997. A three-dimensional finite element model of prismatic enamel: a re-appraisal of the data on the Young's modulus of enamel. *J Dent Res*, 76 (10):1690-1697.
123. Spielman AI. 1990. Interaction of saliva and taste. *J Dent Res*, 69 (3):838-843.
124. Stinson MW, Levine MJ. 1993. Modulation of intergeneric adhesion of oral bacteria by human saliva. *Crit Rev Oral Biol Med*, 4 (3-4):309-314.
125. Stößer L, Tietze W, Heinrich-Weltzien R, Krüger C, Griffiths JC, Auerbach MH. 2005. Polydextrose - ein "zahnfreundlicher" Kohlenhydrat-Füllstoff. *Oral Prophyl*, 27 (4):144-149
126. Stößer L. 2006. Die Erosivität von Nahrungsmitteln. *Oral Prophyl*, 28 (3):116-121.
127. Stößer L. 2008. Fluorid zur Prävention der Milchzahnkaries. *ZM*, 98 (14):2000-2003
128. ten Bruggen Cate HJ. 1968. Dental erosion in industry. *Br J Ind Med*, 25 (4):249-266.
129. Tredwin CJ, Scully C, Bagan-Sebastian JV. 2005. Drug-induced disorders of teeth. *J Dent Res*, 84 (7):596-602.
130. Tuominen M, Tuominen R. 1991. Tooth surface loss among people exposed to cement and stone dust in the work environment in Tanzania. *Community Dent Health*, 8 (3):233-238.
131. Turner RJ, Sugiya H. 2002. Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Dis*, 8 (1):3-11.

132. Van Eygen I, Vannet BV, Wehrbein H. 2005. Influence of a soft drink with low pH on enamel surfaces: an in vitro study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 128 (3):372-377.
133. Veerman EC, van den Keybus PA, Vissink A, Nieuw Amerongen AV. 1996. Human glandular salivas: their separate collection and analysis. *Eur J Oral Sci*, 104 (4 ( Pt 1)):346-352.
134. Venables MC, Shaw L, Jeukendrup AE, Roedig-Penman A, Finke M, Newcombe RG, Parry J, Smith AJ. 2005. Erosive effect of a new sports drink on dental enamel during exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 37 (1):39-44.
135. Walsh NP, Montague JC, Callow N, Rowlands AV. 2004. Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. *Arch Oral Biol*, 49 (2):149-154.
136. Watanabe S, Dawes C. 1988. The effects of different foods and concentrations of citric acid on the flow rate of whole saliva in man. *Arch Oral Biol*, 33 (1):1-5.
137. West NX, Hughes JA, Addy M. 2000. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil*, 27 (10):875-880.
138. West NX, Hughes JA, Addy M. 2001. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. *J Oral Rehabil*, 28 (9):860-864.
139. Wetton S, Hughes J, Newcombe RG, Addy M. 2007. The effect of saliva derived from different individuals on the erosion of enamel and dentine. A study in vitro. *Caries Res*, 41 (5):423-426.
140. White SN, Luo W, Paine ML, Fong H, Sarikaya M, Snead ML. 2001. Biological organization of hydroxyapatite crystallites into a fibrous continuum toughens and controls anisotropy in human enamel. *J Dent Res*, 80 (1):321-326.
141. Whittaker DK. 1982. Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol*, 27 (5):383-392.
142. Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhaes AC, Sener B, Attin T. 2008. Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta Odontol Scand*, 66 (4):225-230.
143. Wilson PR, Beynon AD. 1989. Mineralization differences between human deciduous and permanent enamel measured by quantitative microradiography. *Arch Oral Biol*, 34 (2):85-88.
144. Yao Y, Grogan J, Zehnder M, Lendenmann U, Nam B, Wu Z, Costello CE, Oppenheim FG. 2001. Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry. *Arch Oral Biol*, 46 (4):293-303.

145. Young W, Khan F, Brandt R, Savage N, Razek AA, Huang Q. 2001. Syndromes with salivary dysfunction predispose to tooth wear: Case reports of congenital dysfunction of major salivary glands, Prader-Willi, congenital rubella, and Sjogren's syndromes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 92 (1):38-48.
146. Zahradnik RT, Moreno EC, Burke EJ. 1976. Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. *J Dent Res*, 55 (4):664-670.
147. Zahradnik RT, Propas D, Moreno EC. 1977. In vitro enamel demineralization by *Streptococcus mutans* in the presence of salivary pellicles. *J Dent Res*, 56 (9):1107-1110.
148. Zeeck A. 1997. *Chemie für Mediziner*. (3):100 - 112.
149. Zero DT, Rahbek I, Fu J, Proskin HM, Featherstone JD. 1990. Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test and mineral dissolution of bovine enamel following acid challenge. *Caries Res*, 24 (3):181-188
150. Zero DT. 1996. Etiology of dental erosion - extrinsic factors. *Eur J Oral Sci*, 104 (2 ( Pt 2)):162-177.
151. Zero DT, Lussi A. 2006. Behavioral factors. *Monogr Oral Sci*, 20:100-105.

## Anhang

Tab. 13: pH-Werte in wässriger Lösung eines Gramms bzw. 2,8 Gramm Bonbon mit definiertem Zitronensäuregehalt

| Zitronensäuregehalt<br>je Candy | 0,5% | 1,0% | 1,25% | 1,5% | 2,0% | 2,5% |
|---------------------------------|------|------|-------|------|------|------|
| 1 g Candy / 15ml                | 3,07 | 2,88 | 2,86  | 2,89 | 2,75 | 2,79 |
| 2,8 g Candy / 15 ml             | 2,79 | 2,62 | 2,53  | 2,54 | 2,40 | 2,27 |

Tab. 14: pH-Mittelwerte Candy-Speichellösungen (in 60-s-Intervallen gesammelt, extraoral gemessen)

| Zitronensäurekonz. der<br>Candies in % | 0,5  | 1,0  | 1,25 | 1,5  | 2,0  | 2,5  |
|--|------|------|------|------|------|------|
| Zeit in min                            |      |      |      |      |      |      |
| 0                                      | 7,00 | 7,2  | 7,13 | 7,23 | 6,93 | 7,03 |
| 1                                      | 6,78 | 5,23 | 4,53 | 4,50 | 4,30 | 3,87 |
| 2                                      | 6,83 | 4,80 | 4,30 | 4,37 | 4,23 | 3,83 |
| 3                                      | 6,82 | 5,33 | 4,70 | 4,70 | 4,57 | 4,00 |
| 4                                      | 6,92 | 5,63 | 4,93 | 5,07 | 4,97 | 4,13 |
| 5                                      | 7,07 | 5,90 | 5,47 | 5,67 | 5,47 | 4,57 |
| 6                                      | 7,15 | 6,77 | 6,43 | 6,83 | 6,40 | 5,87 |
| 7                                      | 7,37 | 7,20 | 7,20 | 7,33 | 7,13 | 7,00 |
| 8                                      | 7,50 | 7,47 | 7,30 | 7,30 | 7,23 | 7,33 |
| 9                                      | 7,42 | 7,43 | 7,27 | 7,37 | 7,23 | 7,33 |
| 10                                     | 7,37 | 7,43 | 7,33 | 7,37 | 7,20 | 7,40 |
| 12                                     | 7,28 | 7,40 | 7,23 | 7,17 | 7,13 | 7,33 |
| 14                                     | 7,27 | 7,40 | 7,20 | 7,13 | 7,20 | 7,27 |
| 16                                     | 7,22 | 7,40 | 7,17 | 7,23 | 7,13 | 7,30 |
| 18                                     | 7,15 | 7,40 | 7,17 | 7,17 | 7,17 | 7,40 |
| 20                                     | 7,17 | 7,33 | 7,17 | 7,17 | 7,20 | 7,30 |

Tab. 15: Speichel-pH-Werte in 60-s-Intervallen intraoral im Mundboden gemessen, während und nach Verzehr

| Zitronensäurekonz.<br>der Candies in % | 0,5  | 1,0  | 1,25 | 1,5  | 2,0  | 2,5  |
|--|------|------|------|------|------|------|
| Zeit in min                            |      |      |      |      |      |      |
| 0                                      | 6,83 | 6,8  | 6,77 | 6,63 | 6,70 | 6,7  |
| 1                                      | 6,87 | 7,00 | 6,37 | 7,00 | 6,67 | 7,20 |
| 2                                      | 6,73 | 7,33 | 7,00 | 7,27 | 6,73 | 7,37 |
| 3                                      | 6,97 | 7,30 | 7,23 | 7,23 | 6,77 | 7,40 |
| 4                                      | 7,13 | 7,37 | 7,20 | 7,30 | 7,03 | 7,43 |
| 5                                      | 7,13 | 7,33 | 7,30 | 7,33 | 7,20 | 7,47 |
| 6                                      | 7,20 | 7,43 | 7,37 | 7,37 | 7,17 | 7,47 |
| 7                                      | 7,20 | 7,33 | 7,27 | 7,23 | 6,97 | 7,47 |
| 8                                      | 7,13 | 7,17 | 7,23 | 7,10 | 6,90 | 7,37 |
| 9                                      | 7,00 | 7,17 | 7,20 | 7,20 | 6,93 | 7,27 |
| 10                                     | 6,93 | 7,10 | 7,03 | 7,03 | 6,97 | 7,20 |
| 12                                     | 6,97 | 7,07 | 7,03 | 6,67 | 6,97 | 7,07 |
| 14                                     | 6,90 | 6,97 | 7,07 | 6,83 | 6,90 | 7,03 |
| 16                                     | 6,77 | 6,93 | 7,03 | 6,77 | 6,83 | 7,03 |
| 18                                     | 6,73 | 6,77 | 7,00 | 6,83 | 6,90 | 6,90 |
| 20                                     | 6,73 | 6,80 | 6,87 | 6,73 | 6,93 | 6,93 |

Tab. 16: Speichelmengen in 60-s-Intervallen extraoral gesammelt während und nach Verzehr

| Zitronensäurekonz.<br>der Candies in % | 0,5  | 1,0  | 1,25 | 1,5  | 2,0  | 2,5  |
|--|------|------|------|------|------|------|
| Zeit in min                            |      |      |      |      |      |      |
| 0                                      | 1,14 | 1,09 | 1,15 | 1,17 | 1,23 | 1,12 |
| 1                                      | 3,82 | 2,68 | 4,65 | 4,37 | 4,98 | 5,02 |
| 2                                      | 3,76 | 3,99 | 4,65 | 4,83 | 4,53 | 5,06 |
| 3                                      | 3,43 | 4,42 | 4,09 | 4,18 | 4,55 | 4,57 |
| 4                                      | 3,61 | 3,40 | 3,88 | 3,64 | 3,95 | 3,89 |
| 5                                      | 3,82 | 3,71 | 3,22 | 3,31 | 2,76 | 3,76 |
| 6                                      | 2,91 | 2,27 | 1,92 | 1,98 | 1,92 | 2,51 |
| 7                                      | 1,82 | 1,40 | 1,36 | 1,03 | 1,19 | 1,40 |
| 8                                      | 1,17 | 0,99 | 1,29 | 1,17 | 0,97 | 1,12 |
| 9                                      | 0,91 | 1,09 | 1,09 | 0,96 | 1,01 | 1,14 |
| 10                                     | 0,99 | 0,81 | 1,02 | 0,94 | 0,79 | 0,84 |
| 12                                     | 1,01 | 1,00 | 0,87 | 0,73 | 1,13 | 1,18 |
| 14                                     | 0,99 | 1,03 | 0,87 | 1,00 | 0,95 | 1,12 |
| 16                                     | 0,85 | 1,07 | 1,13 | 0,99 | 1,30 | 1,26 |
| 18                                     | 0,99 | 1,12 | 0,86 | 1,02 | 1,24 | 1,06 |
| 20                                     | 1,10 | 0,99 | 1,32 | 1,03 | 0,80 | 1,07 |



Tab. 17: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 0,5%iger Bonbons *in situ* und 24-h-*in-situ*-Pellikel

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD   | MW Endhärte<br>in HV | SD   | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|------|----------------------|------|----------------------------|
| 370   | 355,2                     | 6,7  | 361,0                | 5,3  | -5,8                       |
| 375   | 312,0                     | 3,8  | 313,5                | 13,7 | -1,5                       |
| 376   | 310,2                     | 10,2 | 301,7                | 18,1 | 8,5                        |
| 378   | 304,9                     | 15,6 | 274,4                | 19,2 | 30,5                       |
| 380   | 323,1                     | 10,0 | 325,0                | 12,9 | -1,9                       |
| 381   | 357,3                     | 5,0  | 358,7                | 5,1  | -1,4                       |
| 382   | 360,6                     | 14,9 | 353,4                | 13,5 | 7,2                        |
| 383   | 341,9                     | 7,0  | 341,4                | 6,6  | 0,5                        |
| 384   | 362,5                     | 14,2 | 345,7                | 6,2  | 16,8                       |
| 385   | 343,4                     | 9,3  | 342,0                | 6,9  | 1,4                        |

Tab. 18: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 0,5%iger Bonbons *in situ* und Pellikel *in statu nascendi*

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD   | MW Endhärte<br>in HV | SD   | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|------|----------------------|------|----------------------------|
| 354   | 358,2                     | 9,0  | 346,4                | 9,8  | 11,8                       |
| 356   | 359,4                     | 22,0 | 356,0                | 23,0 | 3,4                        |
| 357   | 321,6                     | 11,5 | 309,8                | 6,8  | 11,8                       |
| 359   | 355,3                     | 14,3 | 346,9                | 14,6 | 8,4                        |
| 360   | 328,9                     | 12,4 | 326,8                | 4,3  | 2,1                        |
| 362   | 362,0                     | 5,5  | 350,1                | 8,3  | 11,9                       |
| 363   | 352,6                     | 14,4 | 350,0                | 9,6  | 2,6                        |
| 364   | 332,2                     | 8,2  | 330,3                | 7,1  | 1,9                        |
| 365   | 335,7                     | 9,2  | 330,6                | 9,0  | 5,1                        |
| 372   | 327,0                     | 8,9  | 321,9                | 9,8  | 5,1                        |

Tab. 19: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 0,5 %iger Bonbons *in vitro* mit 24-h-*in-situ*-Pellikel

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD   | MW Endhärte<br>in HV | SD   | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|------|----------------------|------|----------------------------|
| 308   | 331,6                     | 8,6  | 333,2                | 8,8  | -1,6                       |
| 309   | 346,6                     | 12,6 | 330,2                | 6,6  | 16,4                       |
| 310   | 329,4                     | 8,7  | 323,4                | 10,6 | 6,0                        |
| 311   | 383,3                     | 3,6  | 384,8                | 19,5 | -1,5                       |
| 312   | 342,1                     | 8,0  | 341,8                | 12,6 | 0,3                        |
| 313   | 309,6                     | 11,8 | 302,7                | 9,7  | 6,9                        |
| 314   | 327,4                     | 16,5 | 326,3                | 20,2 | 1,1                        |
| 315   | 300,8                     | 16,1 | 279,1                | 44,8 | 21,7                       |
| 316   | 313,1                     | 9,0  | 309,7                | 2,9  | 3,4                        |
| 319   | 413,3                     | 14,7 | 417,3                | 18,9 | -4,0                       |

Tab. 20: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 0,5%iger Bonbons *in vitro* ohne Pellikel

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD   | MW Endhärte<br>in HV | SD   | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|------|----------------------|------|----------------------------|
| 36    | 342,1                     | 3,8  | 273,2                | 6,8  | 68,9                       |
| 37    | 353,5                     | 14,8 | 294,8                | 11,5 | 58,7                       |
| 40    | 353,3                     | 4,2  | 292,2                | 12,3 | 61,1                       |
| 51    | 311,2                     | 12,0 | 238,9                | 8,5  | 72,3                       |
| 52    | 254,2                     | 4,3  | 194,0                | 8,5  | 60,2                       |
| 53    | 329,6                     | 9,3  | 276,8                | 9,2  | 52,8                       |
| 54    | 292,8                     | 6,7  | 243,5                | 7,2  | 49,3                       |
| 76    | 313,2                     | 17,8 | 255,9                | 12,2 | 57,3                       |
| 77    | 282,9                     | 16,5 | 237,2                | 7,8  | 45,7                       |
| 78    | 364,8                     | 14,3 | 299,9                | 9,2  | 64,9                       |

Tab. 21: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 2,0%iger Bonbons *in situ* mit 24-h-*in-situ*-Pellikel, dynamischer Verzehrmodus

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD   | MW Endhärte<br>in HV | SD   | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|------|----------------------|------|----------------------------|
| 114   | 335,1                     | 9,1  | 251,1                | 6,6  | 84,0                       |
| 116   | 360,0                     | 14,4 | 317,5                | 14,5 | 42,5                       |
| 118   | 254,8                     | 11,0 | 185,5                | 3,0  | 69,3                       |
| 123   | 303,2                     | 15,2 | 261,9                | 13,1 | 41,3                       |
| 147   | 381,2                     | 7,6  | 304,5                | 15,2 | 76,7                       |
| 149   | 328,7                     | 5,6  | 287,0                | 14,1 | 41,7                       |
| 151   | 361,8                     | 12,3 | 304,5                | 19,4 | 57,3                       |
| 153   | 373,3                     | 14,3 | 278,0                | 9,9  | 95,3                       |
| 154   | 350,3                     | 14,3 | 257,7                | 8,2  | 92,6                       |
| 264   | 350,8                     | 16,1 | 305,9                | 10,0 | 44,9                       |

Tab. 22: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 2,0%iger Bonbons *in situ* mit 24-h-*in-situ*-Pellikel, statischer Verzehrmodus

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD   | MW Endhärte<br>in HV | SD   | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|------|----------------------|------|----------------------------|
| 171   | 319,2                     | 7,0  | 252,6                | 13,1 | 66,6                       |
| 172   | 344,6                     | 13,2 | 290,3                | 7,9  | 54,3                       |
| 187   | 338,2                     | 10,9 | 304,1                | 20,5 | 34,1                       |
| 188   | 345,9                     | 10,1 | 295,2                | 11,1 | 50,7                       |
| 189   | 330,9                     | 3,3  | 282,1                | 15,2 | 48,8                       |
| 220   | 343,9                     | 4,4  | 313,0                | 10,5 | 30,9                       |
| 221   | 336,7                     | 15,7 | 289,4                | 16,5 | 47,3                       |
| 223   | 326,8                     | 5,9  | 291,6                | 10,8 | 35,2                       |
| 266   | 384,8                     | 5,6  | 316,2                | 4,3  | 68,6                       |
| 267   | 328,3                     | 10,2 | 291,4                | 6,3  | 36,9                       |

Tab 23: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 2,0%iger Bonbons *in vitro* mit 24-h-*in-situ*-Pellikel

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD   | MW Endhärte<br>in HV | SD   | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|------|----------------------|------|----------------------------|
| 240   | 314,0                     | 12,3 | 249,7                | 13,5 | 64,3                       |
| 241   | 342,5                     | 8,1  | 269,4                | 6,5  | 73,1                       |
| 244   | 348,9                     | 3,3  | 310,3                | 7,7  | 38,6                       |
| 245   | 356,1                     | 11,7 | 293,5                | 7,2  | 62,6                       |
| 246   | 337,5                     | 14,1 | 299,9                | 13,0 | 37,6                       |
| 247   | 354,8                     | 6,2  | 284,4                | 11,5 | 70,4                       |
| 257   | 339,6                     | 14,8 | 297,1                | 10,4 | 42,5                       |
| 258   | 340,0                     | 9,3  | 297,1                | 8,2  | 42,9                       |
| 259   | 355,6                     | 10,3 | 285,5                | 6,2  | 70,1                       |
| 260   | 323,4                     | 5,3  | 267,3                | 7,5  | 56,1                       |

Tab. 24: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 2,0%iger Bonbons *in vitro* ohne Pellikel

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD  | MW Endhärte<br>in HV | SD  | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|-----|----------------------|-----|----------------------------|
| 11    | 346,2                     | 2,3 | 195,2                | 7,8 | 151,0                      |
| 12    | 375,2                     | 4,2 | 207,7                | 4,0 | 167,5                      |
| 16    | 331,7                     | 2,2 | 204,5                | 7,5 | 127,2                      |
| 25    | 334,3                     | 7,8 | 166,2                | 3,7 | 168,1                      |
| 27    | 357,5                     | 2,0 | 213,9                | 1,1 | 143,6                      |
| 30    | 314,5                     | 2,6 | 172,2                | 5,2 | 142,3                      |
| 31    | 321,1                     | 5,7 | 173,8                | 5,1 | 147,3                      |
| 32    | 365,9                     | 4,1 | 203,8                | 9,3 | 162,1                      |
| 34    | 347,2                     | 1,6 | 198,6                | 6,6 | 148,6                      |
| 35    | 374,7                     | 7,7 | 206,6                | 8,0 | 168,1                      |

Tab. 25: Mikrohärte vor und nach Erosion bei Verwendung 2,0%iger Bonbons *in situ* mit Pellikel *in statu nascendi*

| Probe | MW Ausgangshärte<br>in HV | SD   | MW Endhärte<br>in HV | SD   | Mikrohärteverlust<br>in HV |
|-------|---------------------------|------|----------------------|------|----------------------------|
| 275   | 352,2                     | 11,4 | 281,0                | 10,2 | 71,2                       |
| 276   | 331,1                     | 13,9 | 262,9                | 6,8  | 68,2                       |
| 277   | 342,7                     | 15,6 | 262,4                | 4,5  | 80,3                       |
| 278   | 329,5                     | 11,4 | 263,0                | 10,9 | 66,5                       |
| 286   | 344,4                     | 10,1 | 267,4                | 12,2 | 77,0                       |
| 287   | 345,8                     | 14,9 | 265,0                | 11,7 | 80,8                       |
| 288   | 354,7                     | 14,8 | 289,1                | 12,3 | 65,6                       |
| 290   | 341,7                     | 9,0  | 278,4                | 12,2 | 63,3                       |
| 291   | 334,8                     | 16,2 | 260,7                | 10,9 | 74,1                       |
| 292   | 343,9                     | 8,8  | 269,0                | 12,8 | 74,9                       |

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

dass ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

dass die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, der 27.02.2009

Unterschrift des Verfassers

## **Danksagung**

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Durchführung meiner Promotionsarbeit unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. L. Stößer, Poliklinik für Präventive Zahnheilkunde des Universitätsklinikums Jena, für die Überlassung des Themas und die stete Unterstützung während der gesamten Arbeit.

Weiterhin danke ich auch den Mitarbeitern der Poliklinik für Präventive Zahnheilkunde des Universitätsklinikums Jena für ihre Mitarbeit bei der technischen Durchführung der Versuche, besonders Herrn Tietze für die Betreuung bei den telemetrischen Messungen.

Einen weiteren Dank möchte ich den Mitarbeitern des Elektronenmikroskopischen Zentrums sowie des Institutes für Medizinische Statistik für die Durchführung und Auswertung der Versuche aussprechen.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei den Mitarbeitern der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik und Werkstoffkunde des Universitätsklinikums Jena, besonders bei Herrn Univ.-Prof. Dr. H. Küpper, für die Motivation und das Verständnis, welche mir im Zeitraum meiner Promotionsarbeit entgegengebracht wurden.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, meiner Lebensgefährtin und meinen Kindern, die neben einem großen Maß an Verständnis mir stets die Motivation gaben, die vorliegende wissenschaftliche Arbeit erfolgreich zu beenden und mich in allen Belangen unterstützten.

## Lebenslauf

|   |   |   |
|---|---|---|
| Geburtsdatum:                           | 30.01.1974  | Karl-Marx-Stadt, jetzt Chemnitz   |
| Eltern:                                 | Mutter Rosemarie Decker, geb. Manteuffel<br>Vater Gunter Decker |   |
| Schulischer / Beruflicher<br>Werdegang: | 1980 – 1990   | Besuch der POS „Fritz Große“ in<br>Karl-Marx-Stadt, jetzt Chemnitz  |
|   | 1990 – 1992   | Besuch des „Georgius Agricola“-<br>Gymnasiums in Chemnitz   |
|   | Juni 1992   | Erlangung der Hochschulreife – Abitur   |
|   | 1992 – 1996   | Berufsausbildung zum Kfz-Elektriker<br>BWM AG Niederlassung Chemnitz  |
|   | 1996 – 1997   | nach erfolgreicher Gesellenprüfung<br>Tätigkeit als Kfz-Elektriker<br>BMW AG Niederlassung Chemnitz   |
|   | 1997 – 1998   | Zivildienst im Alten- und Pflegeheim<br>„Am Zeisigwald“ in Chemnitz   |
|   | 1998 – 2003   | Studium der Zahnmedizin an der<br>Friedrich-Schiller-Universität Jena   |
|   | Dezember 2003   | erfolgreiches Staatsexamen und<br>Approbation zum Zahnarzt  |
|   | 2004 – 2005   | Assistenz Zahnarzt bei ZA Dr. Hacker<br>in Erfurt-Gispersleben  |
|   | seit September<br>2005  | Tätigkeit als Assistenz Zahnarzt im<br>ZZMK des Klinikums des Universitäts-<br>klinikums Jena, Poliklinik für Zahnärzt-<br>liche Prothetik und Werkstoffkunde |

Mike Decker